Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 137-157

The Effect of Some Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Rhizoctonia Root rot and Growth Parameters of Common Bean Plants

N. Moarrefzadeh[1]*- H. Khateri[2]- R. Sharifi[3]

Received: 23-12-2022
Revised: 13-03-2023
Accepted: 14-03-2023
Available Online: 15-03-2023

How to cite this article:
Moarrefzadeh, N., Khateri, H., & Sharifi, R. (2023). The effect of some bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on Rhizoctonia root rot and growth parameters of common bean plants. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *37*(2), 137-157. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jpp.2023.80203.1119

Introduction

The seeds of common bean plants (*Phaseolus vulgaris*) are among the most important food sources worldwide. The plant pathogenic fungus *Rhizoctonia solani* causes seed rot and seedling damping-off of bean plants and is one of the most important soil-borne pathogens in most cultivation areas of this plant. *R. solani* plays an important role in reducing the yield and quality of this crop. Biological control is a promising, effective, and sustainable solution for managing soil-borne fungal diseases. The simultaneous use of biological control agents, especially agents with different mechanisms of action, might increase the chance of success in disease management. Indeed, two living agents can show different types of interactions based on their inherent characteristics and ecological conditions. In the current research, the potential of co-application of mycorrhizal fungi and bacterial strains from different taxonomic groups was evaluated on increasing the growth of beans and suppression of bean damping-off.

Materials and Methods

In this research, the effect of 14 different bacterial strains on the mycelial growth of *R. solani* was investigated by dual culture and by the volatile compound production tests in the laboratory. The list of bacterial strains included: *Bacillus megaterium* B15, *Bacillus thuringiensis* B48Pet, *Bacillus subtilis* BS (B.s), *B. subtilis* AS, *Lysinibacillus boronitolerans* RUPB71 (Lysin), *Pseudomonas putida* RUP1, *Arthrobacter citreus* B27Pet, *Alcaligenes faecalis* 1624, *Bacillus pumilus* INR7, *Bacillus thuringiensis* 32B (B.thur), *Azotobacter vinelandii* RUA1 (Azoto), *Delftia tsuruhatensis* PIIR (Delft), *Stenotrophomonas maltophilia* S37 and *Bacillus velezensis* JPS19 (B.vel). In the dual culture test, B.s, B.vel, Alca, Azoto, Lysin, and Delft strains significantly reduced the mycelial growth of the pathogen. In volatile compounds production test, three strains, Alca, Azoto, and B.thur, significantly reduced the mycelial growth of the pathogen. Four bacterial strains, including B.s, B.vel, Alca, and Azoto, were selected for greenhouse experiment. The selected bacterial strains as separate and combined application with two species of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), including *Funneliformis mosseae* (F.moss) and *Glomus claroideum* (G.cla) were investigated for inhibiting the disease caused by *R. solani*, and for their effect on the growth parameters of bean plants in the presence of the pathogen. The greenhouse experiment was conducted as a completely randomized design with 16 treatments and five replications.

Results and Discussion

Many of the greenhouse treatments that were applied in this study, significantly reduced the severity of the disease compared to the diseased control. They significantly increased the fresh and the dry weight of the shoots, root fresh weight and root dry weight. Four treatments (F.moss, B.s, Alca and Azoto) significantly enhanced the

1, 2 and 3- Assistant Professors of Plant Pathology, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Razi University
(*- Corresponding Author Email: n.moarrefzadeh@razi.ac.ir)
DOI: 10.22067/jpp.2023.80203.1119

root length and four treatments (Alca, B.s, B.vel+G.cla and Alca+G.cla) increased the shoot length. In terms of the effect on the disease, the B.s strain was the best treatment, which reduced the disease severity by 36.5% and showed the greatest effect in promoting the vegetative characteristics of the plant. Although the bacterial and mycorrhizal strains showed compatibility in many combined treatments, G.cla+B.vel was the only double treatment that showed an increasing effect on the fresh weight and shoot length compared to the separate applications. The other double treatments did not have an additive or synergistic effect in reducing the disease and improving plant growth. Even in some double treatments, in terms of reducing disease and improving plant growth, a weaker effect was seen than their single treatments. Among different treatments, Alca+G.cla and Alca+F.moss showed the highest and B.s+G.cla showed the lowest mycorrhizal colonization.

Conclusion

The effect of bacteria on mycorrhizal colonization was increasing, decreasing, or null depending on the combination of bacterial and mycorrhizal strains used. In many cases, there was no direct relationship between the amount of mycorrhizal colonization and disease control. Overall, before the commercial use of the combination of biological agents, it is necessary to check their interactions in greenhouse and field experiments and ensure their compatibility and lack of antagonistic effect on each other. If the biological agents present in a consortium are compatible, its biocontrol effect will be more stable, efficient and reliable, and it will be possible to use it in a wider range of variable soil ecological conditions. Moreover, the interaction of individuals within a given consortium is strain-specific, and the results of an experiment on specific strains cannot be generalized to other strains of the same species.

Keywords: Biological control, Disease severity, Growth stimulation, *Rhizoctonia solani*

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران

https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، ص. ۱۵۷-۱۳۷

اثر برخی باکتری‌ها و قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای بر بیماری بوته‌میری ریزوکتونیایی و ویژگی‌های رویشی لوبیا

ناهید معرف‌زاده[1*]- هادی خاطری[2]- روح‌اله شریفی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۰۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۲۳

چکیده

دانه‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) از مواد غذایی مهم در سراسر جهان محسوب می‌شوند. قارچ *Rhizoctonia solani* عامل بوته‌میری گیاه لوبیا و از مهم‌ترین بیمارگرهای خاک‌زاد در بیشتر مناطق کشت این گیاه در سراسر جهان است و نقش مهمی در کاهش عملکرد و کیفیت محصول دارد. کنترل زیستی راهکاری امیدبخش، مؤثر و پایدار برای مدیریت بیماری‌های قارچی خاک‌زاد است. در این پژوهش اثر ۱۴ سویه باکتریایی از جنس‌ها و گونه های مختلف بر رشد میسلیومی قارچ *R. solani* با آزمون کشت متقابل و تولید ترکیبات فرار در آزمایشگاه بررسی گردید. بر اساس دو آزمون هاله بازدارندگی و توانایی تولید ترکیبات فرار بازدارنده رشد، چهار سویه باکتریایی شامل *Bacillus subtilis* BS (B.s)، *Bacillus velezensis* JPS19 (B.vel)، *Azotobacter vinelandii* RUA1 (Azoto) و *Alcaligenes faecalis* 1624 (Alca) انتخاب شدند و اثر کاربرد جداگانه و دوگانه آن‌ها با دو گونه قارچ میکوریزی دارسانه‌ای شامل *Funneliformis mosseae* و *Glomus claroideum* بر مهار بوته‌میری ناشی از *R. solani* و ویژگی‌های رویشی لوبیا در حضور بیمارگر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار و ۵ تکرار در گلخانه بررسی گردید. بسیاری از تیمارها، شدت بیماری را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد بیمار کاهش دادند و سبب افزایش وزنِ تر و وزنِ خشک اندام‌های هوایی، وزنِ تر ریشه و وزنِ خشک ریشه گردیدند. تیمارهای F.moss، B.s، Alca و Azoto سبب افزایش معنی‌دار طول ریشه و تیمارهای Alca و B.s و B.vel+G.cla و Alca+G.cla سبب افزایش طول اندام هوایی نیز گردیدند. از نظر اثر روی بیماری، سویه B.s بهترین تیمار بود که شاخص بیماری را ۳۶٫۵ درصد کاهش داد و در مجموع بیشترین اثر را در بهبود ویژگی‌های رویشی گیاه نشان داد. با وجود این که سویه‌های باکتریایی و میکوریزی در بسیاری از تیمارهای دوگانه سازگاری نشان دادند، فقط تیمار دوگانه G.cla+B.vel، نسبت به کاربرد جداگانه هر یک از عوامل، اثر افزایشی بر وزنِ تر و طول اندام هوایی نشان داد. دیگر تیمارهای دوگانه، اثر افزایشی و یا هم‌افزایی در کاهش بیماری و بهبود رشد گیاه نداشتند. حتی در برخی تیمارهای دوگانه از نظر کاهش بیماری و بهبود رشد گیاه اثر ضعیف‌تری نسبت به تیمارهای منفردشان دیده شد. در میان تیمارهای مختلف، Alca+G.cla و Alca+ F.moss بیشترین و B.s+G.cla کمترین میزان کلنیزاسیون میکوریزی را نشان دادند. اثر باکتری‌ها بر کلنیزاسیون میکوریزی ریشه، بسته به سویه باکتریایی و میکوریزی مورد استفاده، افزاینده، کاهنده یا فاقد اثر بود. در بسیاری از موارد، بین میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه و مهار بیماری نیز رابطه مستقیمی دیده نشد. با توجه به نتایج حاصل می‌توان گفت استفاده از ترکیب عوامل کنترل زیستی نسبت به کاربرد جداگانه هر یک از این عوامل همیشه کارآمدتر نبوده و نتایج حاصل، با توجه به سویه یا گونه باکتریایی و میکوریزی ترکیب‌شونده، متفاوت است.

واژه‌های کلیدی: تحریک رشد، شدت بیماری، کنترل زیستی، *Rhizoctonia solani*

۱، ۲ و ۳- استادیاران بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی

(*- نویسنده مسئول: Email: n.moarrefzadeh@razi.ac.ir)

DOI: 10.22067/jpp.2023.80203.1119

مقدمه

قارچ *Rhizoctonia solani* Kühn (تلئومورف: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk) یک بیمارگر خاکزاد و مرده‌پرور است که در بخش‌های وسیعی از جهان و در دامنه گسترده ای از گونه‌های گیاهی از جمله لوبیا باعث پوسیدگی دانه، مرگ گیاهچه، پوسیدگی هیپوکوتیل، نکروز ساقه، پوسیدگی ریشه و در نهایت کاهش عملکرد و کیفیت محصول می‌شود (Domsch *et al.*, 2007; Tu *et al.*, 1996).

کنترل *R. solani* به دلیل ویژگی‌هایی مانند مرده‌پرور بودن، تنوع زیاد در جمعیت بیمارگر، بقای طولانی‌مدت در خاک، دامنه میزبانی وسیع و پراکنش گسترده آن دشوار است (Nawrocka *et al.*, 2018; Thakur *et al.*, 2018). قارچ‌کش‌های شیمیایی رایج‌ترین شیوه مورد استفاده توسط کشاورزان برای کنترل این بیمارگر هستند. استفاده بیش ازحد و پیاپی از این ترکیبات، هزینه‌های تولید را افزایش داده (Madhavi *et al.*, 2018) و علاوه بر سمّیت روی جانداران غیر هدف (Daroodi *et al.*, 2021)، خطرات فراوانی برای سلامت انسان و محیط‌زیست ایجاد می‌نماید (Heflish *et al.*, 2021). افزون بر این، به دلیل خاکزاد بودن و دامنه میزبانی گسترده (Jelodarnezhadian and Shahbazi, 2017) بسیاری از قارچ‌کش‌ها برای مدیریت جمعیت بیمارگر در خاک مؤثر نبوده و حتی ممکن است منجر به ظهور ژنوتیپ های مقاوم بیمارگر شوند (Grimmer *et al.*, 2015).

کنترل زیستی به دلیل اختصاصی بودن علیه بیمارگرهای گیاهی، سازگاری با محیط زیست، برهمکنش‌های هم‌افزا با گیاهان و سازوکار های چندمنظوره، رویکردی امیدبخش، مؤثر و پایدار برای مدیریت بیماری‌های قارچی خاکزاد است (Heflish *et al.*, 2021; Yao *et al.*, 2021). بهره‌برداری از عوامل کنترل زیستی، از جمله ریزوباکتری های محرک رشد گیاه[1] (PGPR) و قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای[2] (AMF) یکی از روش‌های امیدبخش برای جایگزینی قارچ‌کش‌ها یا کاهش غلظت و دفعات کاربرد آن‌ها در کنترل بیمارگرهای گیاهی است (Adesemoye *et al.*, 2009; Buysens *et al.*, 2015). این عوامل در برابر بیمارگرهای قارچی از سازوکارهای گوناگونی بهره می‌گیرند (Vinale *et al.*, 2006). افزون بر این، برخی از این میکروارگانیسم‌ها می‌توانند رشد و عملکرد گیاه را افزایش دهند (Liu *et al.*, 2018). به همین سبب پژوهش‌های متعددی برای شناسایی عوامل دارای توانایی مهار بیماری بوته‌میری ناشی از *R. solani* در گیاهان مختلف انجام گرفته‌اند (Aljawasim *et al.*, 2020; Hafez *et al.*, 2013; Jelodarnezhadian and Shahbazi, 2017; Madhavi *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2021; Yu *et al.*, 2017).

قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای ضمن ایجاد یک رابطه همزیستی سودمند با ریشه‌های بیشتر گیاهان خشکی‌زی (Shi *et al.*, 2012) و در ازای دریافت مواد غذایی مترشحه از سیستم ریشه گیاه (Jacott *et al.*, 2017)، مزایای زیادی برای میزبان‌های خود فراهم می‌کنند؛ آن ها سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی، بهبود سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاه می‌شوند (Jacott *et al.*, 2017; Rouphael *et al.*, 2015; Smith *et al.*, 2003). همچنین نقش مهمی در افزایش مقاومت یا تحمل گیاهان میزبان در برابر تنش‌های غیرزیستی و زیستی از جمله بیمارگرهای خاکزاد و بهبود سلامت آن‌ها دارند (Aljawasim *et al.*, 2020; Moarrefzadeh *et al.*, 2021c; Wu *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2020). گزارش‌های متعددی در مورد نقش AMF در کاهش بروز و شدت بیماری ناشی از *R. solani* و افزایش رشد و عملکرد در گیاهانی مانند سیب‌زمینی (Mohammadi *et al.*, 2020; Mohammed *et al.*, 2020; Yao *et al.*, 2002)، هندوانه (Wu *et al.*, 2021)، گوجه‌فرنگی (Aboelmagd, 2021)، بامیه (Matrood and Al-Taie, 2017)، خیار (Aljawasim *et al.*, 2020) و لوبیا (Hafez *et al.*, 2013) وجود دارد.

ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه، گروهی از باکتری‌های خاک یا ریزوسفر هستند که ارتباط نزدیکی با سیستم ریشه گیاهان داشته و علاوه بر تأثیر مفیدشان بر سلامت و عملکرد بسیاری از محصولات زراعی، نقشی مهمی در کنترل زیستی بیماری‌ها و حفاظت از محصول در برابر زیان‌های ناشی از آن‌ها ایفا می‌کنند (Abbas *et al.*, 2019; Gouda *et al.*, 2018; Kankam *et al.*, 2021; Moarrefzadeh *et al.*, 2021b). در پژوهش‌های گوناگون، تعدادی از PGPR مانند *Paenibacillus polymyxa* (Chavez-Ramirez et al., 2020)، *Bacillus* spp. (Donmez *et al.*, 2015; Huang *et al.*, 2012) و *Pseudomonas* spp. (Jelodarnezhadian and Shahbazi, 2017; Madhavi *et al.*, 2018; Yu *et al.*, 2017) در برابر *R. solani* در گیاهانی مانند لوبیا و سیب‌زمینی بسیار کارآمد بوده‌اند. برخی نیز علاوه بر کاهش شدت بیماری، ویژگی‌های رویشی گیاه را افزایش داده (Jelodarnezhadian and Shahbazi, 2017; Yu *et al.*, 2017) یا فعالیت‌های محرک رشد (مانند تولید سیدروفور، تثبیت نیتروژن یا حلالیت فسفات) نشان داده‌اند (Chavez-Ramirez *et al.*, 2020; Donmez *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2017). افزون بر این، برخی PGPR اثر محرک قوی بر رشد AMF داشته‌اند (Linderman, 1997).

بیشتر راهبردهایی که برای کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی خاک

1- Plant growth promoting rhizobacteria
2- Arbuscular mycorrhizal fungi

زاد به کار می‌روند، تنها به یک عامل میکروبی متکی هستند (Larkin *et al*., 1998). کاربرد عوامل کنترل زیستی به‌صورت جداگانه شاید نتواند در شرایط محیطی متنوع ریزوسفر و خاک به‌طور پیوسته عمل نماید، بنابراین بهتر است این راهبرد تغییر یابد. یکی از رویکردهای غلبه بر این عملکرد ناپایدار، آمیختن بیش از یک عامل میکروبی در یک آموده زیستی است (Atwa, 2018). جوامع میکروبی در زیستگاه‌های طبیعی زندگی کرده و هر یک از اجزای میکروبی، مزایای خاصی برای گیاهان فراهم می‌کنند (Ouhaibi-Ben Abdeljalil *et al*., 2021). ترکیب عوامل زیستی می‌تواند شرایط واقعی محیط خاک را بهتر شبیه‌سازی نماید (Atwa, 2018) و ممکن است دامنه فعالیت آنتاگونیستی آن در برابر طیف گسترده‌ای از بیمارگرهای مختلف که به گیاه حمله می‌کنند، توسعه یافته و در نهایت کارایی کنترل زیستی افزایش یابد (Matrood and Al-Taie, 2017). گزارش‌های متعددی درباره بهبود کارایی بیوکنترل در اثر ترکیب چند عامل میکروبی منتشر شده‌اند؛ به‌عنوان‌مثال کاربرد *Azotobacter chroococcum* به همراه *Glomus intraradices* (نام جدید *Rhizophagus irregularis*) در کاهش بروز و شدت بیماری *R. solani* و بهبود ویژگی‌های رویشی و عملکرد لوبیا در گلخانه و مزرعه مؤثرتر از کاربرد هر کدام از این عوامل به‌طور جداگانه بوده است (Matloob and Juber, 2013). تیمار دانه های لوبیا با *Paenibacillus polymyxa*، *Pseudomonas fluorescens* و Mycorrhizeen (حاوی اندوسپورهای *Glomus* sp.) به‌صورت جداگانه یا در ترکیب‌های مختلف نشان داد که در مقایسه با شاهد تیمار نشده، بالاترین درصد زنده‌مانی گیاهچه‌ها در برابر آلودگی به *R. solani*، در تیمار ترکیبی سه‌گانه و قارچ‌کش tolclofos methyl+thiram بود و بیشترین بهبود ویژگی‌های رویشی نیز در تیمار ترکیبی سه‌گانه و سپس ترکیب میکوریز با *P. fluorescens* دیده شد (Atwa, 2018).

در ایران، لوبیا در میان حبوبات دارای بیشترین سطح زیر کشت بوده و بنابراین اهمیت زیادی دارد (Saberi-Rise and Moradi-Pour, 2020). از سوی دیگر، بیماری بوته‌میری ریزوکتونیایی لوبیا می تواند زیان‌های فراوانی به این گیاه وارد نماید. تا به امروز پژوهش‌های متعددی در مورد بیوکنترل این بیماری توسط PGPR انجام شده است اما جهت دستیابی به مدیریت پایدار آن، تلاش برای شناسایی سویه های جدید دارای توان بیوکنترلی این بیمارگر و ارزیابی کارایی آن‌ها با آزمون‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای ضروری است (Yildirim and Erper, 2017). همچنین، با وجود این که در گذشته توان کنترل زیستی ترکیب AMF و برخی باکتری‌ها در برابر عوامل بیماری‌زای گیاهی متعدد در طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی مورد مطالعه قرار گرفته، پژوهش‌های صورت گرفته در مورد اثر ترکیبی این عوامل بر بیمارگر *R. solani* در لوبیا بسیار محدود است. از سوی دیگر مشخص شده که اثر بازدارندگی ترکیب‌های میکروبی نسبت به بیمارگر ممکن است افزایشی، کاهشی یا بدون تغییر باشد (Xu *et al*., 2011). بنابراین، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر سویه‌های باکتریایی متعلق به جنس‌های مختلف در شرایط آزمایشگاه در برابر بیمارگر *R. solani*، ارزیابی اثر کاربرد جداگانه و دوگانه چهار سویه باکتریایی منتخب در آزمایشگاه با دو گونه AMF در مهار زیستی بیماری بوته‌میری ریزوکتونیایی لوبیا و بررسی تأثیر عوامل مذکور بر ویژگی‌های رویشی لوبیا در حضور بیمارگر در گلخانه انجام شد. از اهداف دیگر این پژوهش آن بود که مشخص شود تأثیر کاربرد PGPR بر کلنیزاسیون میکوریزی ریشه چگونه است و اینکه آیا بین میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه و شدت بوته‌میری ریزوکتونیایی رابطه‌ای وجود دارد یا خیر.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani*، قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای و سویه‌های باکتریایی

جدایه‌ای از قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani* AG-2 از مجموعه قارچ‌های بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه تهیه شد. این جدایه که شناسایی آن پیش‌تر بر اساس خصوصیات ریخت‌شناختی انجام شده و بیماری‌زایی آن روی لوبیا به اثبات رسیده بود، در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار[1] (PDA) کشت شده و سپس در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید.

دو گونه قارچ میکوریزی دارسانه‌ای *Funneliformis mosseae* (synonym: *Glomus mosseae*) (F.moss)، و *Glomus claroideum* (G.cla) به‌صورت فرمولاسیون تجاری از شرکت زیست فناور توران (شاهرود، نشانی اینترنتی http://turanbiotech.ir) تهیه شدند.

همچنین از ۱۴ سویه متعلق به جنس‌های مختلف باکتریایی که کارایی بسیاری از آن‌ها در مهار برخی بیمارگرهای قارچی و تحریک رشد گیاه به اثبات رسیده است (Borzouei *et al*., 2019; Moarrefzadeh *et al*., 2022; Moarrefzadeh *et al*., 2021a, 2021b, 2021c; Seifi, 2019; Seifi *et al*., 2020) استفاده شد. هشت مورد از این سویه‌ها، شامل *Azotobacter vinelandii* RUA1 (Azoto)، *Bacillus megaterium* B15، *Bacillus thuringiensis* B48Pet، *Bacillus subtilis* BS (B.s)، *Bacillus subtilis* AS، *Lysinibacillus boronitolerans* RUPB71،

1- Potato dextrose agar

RUP1 *Pseudomonas putida* و *Arthrobacter citreus* B27Pet، از کلکسیون باکتری‌های آنتاگونیست بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی تهیه شدند. سویه‌های باکتریایی 1624 *Alcaligenes faecalis* (Alca) از مرکز میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران، INR7 *Bacillus pumilus* از دانشگاه آبرن، ایالات متحده آمریکا، 32B *Bacillus thuringiensis* از پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری و سویه‌های *Delftia tsuruhatensis* PIIR، *Stenotrophomonas maltophilia* S37 و JPS19 *Bacillus velezensis* (B.vel) نیز از دانشگاه پیام نور، کرمانشاه دریافت شدند.

بررسی آنتاگونیسم سویه‌های باکتریایی در برابر قارچ بیمارگر *R. solani* در آزمایشگاه

آزمون کشت متقابل و آزمون تولید ترکیبات فرار ضدقارچی برای تیمارهای باکتریایی، در چارچوب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار به شرح زیر انجام شدند.

آزمون کشت متقابل

اثر ضدقارچی سویه‌های باکتریایی بر رشد میسلیوم بیمارگر، با آزمون کشت متقابل روی محیط کشت PDA و روش دیسک مرکزی با اندکی تغییر بررسی شد (Garbeva *et al.*, 2008). با استفاده از لوپ استریل، از هر جدایه باکتریایی در لبه های چهارطرف هر پلیت PDA (با فاصله تقریباً ۳ میلی‌متر از لبه پلیت) کشت شده و یک روز بعد، یک دیسک آگار حاوی میسلیوم قارچ بیمارگر رشد یافته به قطر شش میلی‌متر در مرکز صفحه آگار قرار داده شد. میزان بازدارندگی از رشد بیمارگر و میانگین قطر هاله بازدارنده، سه روز پس از نگهداری تشتک های پتری در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، اندازه‌گیری شد و با فرمول $IR\ (\%) = \frac{(C-B)}{C} \times 100$ محاسبه گردید (Huang *et al.*, 2017). در این فرمول، IR درصد بازدارندگی، C قطر پرگنه قارچ در تشتک شاهد و B قطر پرگنه قارچ در هر یک از تشتک‌های دارای تیمار باکتریایی است.

آزمون تولید ترکیبات فرار ضدقارچی

این آزمون با اندکی تغییر مطابق روش دنیس و وبستر (Dennis and Webster, 1971) روی محیط PDA انجام شد. سویه‌های باکتریایی روی محیط PDA کشت شده و پس از ۴۸ ساعت درب تشتک های پتری حاوی آن‌ها برداشته شد و بلافاصله به طور معکوس روی تشتک‌های دارای یک دیسک نیم سانتی‌متری حاوی میسلیوم جوان بیمارگر قرار گرفتند. محل اتصال دهانه دو تشتک با پارافیلم به خوبی مسدود شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و نتایج پس از ۳ روز ثبت گردیدند. درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر طبق فرمول هوانگ و همکاران (Huang *et al.*, 2017) محاسبه شد.

آزمون‌های گلخانه‌ای

تکثیر مایه بیمارگر

به‌منظور تکثیر مایه بیمارگر، دانه‌های ارزن ۲۴ ساعت در آب خیسانده شدند و پس از انتقال به ارلن‌های شیشه‌ای، دو بار با فواصل زمانی ۲۴ ساعت و هر بار به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس با اتوکلاو سترون گردیدند. از کناره پرگنه در حال رشد *R. solani* روی محیط کشت PDA (کشت سه روزه)، چند قرص میسلیومی یک سانتی‌متری جدا شده و به درون ارلن‌های حاوی دانه‌های ارزن منتقل گردیدند. ارلن‌ها حدود دو هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شده و هر از چند گاهی تکان داده شدند تا مایه تلقیح بیمارگر به خوبی با دانه‌های ارزن تماس یابد. زمانی که سطح دانه‌ها کاملاً با ریسه‌های قارچ کلنیزه شد، این دانه‌ها به‌عنوان مایه بیمارگر در آزمون گلخانه‌ای به کار برده شدند.

تهیه مایه PGPR

از میان سویه‌های باکتریایی، چهار باکتری که در آزمون‌های درون شیشه‌ای بالاترین بازدارندگی از رشد بیمارگر را در کشت متقابل داشتند و ضمناً دو مورد از آن‌ها بیشترین بازدارندگی توسط تولید ترکیبات فرار را نشان داده بودند، برای بررسی‌های گلخانه‌ای انتخاب شدند (جدول ۱). این باکتری‌ها شامل BS *Bacillus subtilis* (B.s)، 1624 *Alcaligenes faecalis* (Alca)، *Bacillus velezensis* JPS19 (B.vel) و RUA1 *Azotobacter vinelandii* (Azoto) بودند. برای تهیه مایه این باکتری‌ها، از کشت ۴۸ ساعته آن‌ها روی محیط آگار غذایی، یک لوپ پُر به ارلن‌های حاوی محیط مایع Nutrient broth اضافه شد. ارلن‌ها دو روز روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. برای اندازه گیری جمعیت سلول‌های باکتریایی از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر استفاده شد و غلظت آن‌ها روی 10^8 سلول باکتری در میلی‌لیتر تنظیم گردید.

ارزیابی توانایی تیمارها در کنترل زیستی *R. solani* و اثر آن‌ها بر ویژگی‌های رویشی لوبیا در شرایط گلخانه

به‌منظور ارزیابی اثر کاربرد سویه‌های باکتری‌های منتخب به‌صورت جداگانه و دوگانه با فرمولاسیون تجاری قارچهای میکوریزی دارسانه ای (AMF) بر شدت بیماری بوته‌میری ناشی از *R. solani* و ویژگی های رویشی لوبیا در حضور بیمارگر مذکور، آزمایشی گلدانی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار و پنج تکرار در گلخانه انجام شد. نام

تیمارهای اعمال شده در جدول ۲ آورده شده است. دانه‌های لوبیا (رقم Early Khameneh 535 که از ارقام حساس به این بیمارگر بوده و حساسیت آن در بررسی‌های قبلی نگارندگان به اثبات رسیده است (Moarrefzadeh *et al.*, 2023)) با اتانول ۷۰ درصد و سپس هیپوکلریت سدیم نیم درصد (هرکدام به مدت یک دقیقه) ضدعفونی سطحی گردیدند و پس از چند بار شستشو با آب مقطر، به مدت دو روز درون ظروف سترون حاوی لایه نازکی از آب مقطر قرار گرفتند تا جوانه بزنند. ترکیبی از پیت‌ماس و پرلیت سترون (با نسبت حجمی یک به دو) به‌عنوان بستر کشت پایه آماده شد. از گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه هشت و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر و حجم ۴۵۰ میلی‌لیتر برای کشت بذرها استفاده شد. به‌منظور سهولت در اضافه کردن بعدی مایه بیمارگر، در مرکز هر گلدان، یک لوله پلاستیکی به طول ۱۵ و قطر یک سانتی متر قرار داده شد و سپس بستر کشت به درون گلدان‌ها ریخته شد. در تیمار شاهد و دیگر تیمارهای بدون میکوریز، بستر کشت پایه بدون میکوریز استفاده شد. در تیمارهای دارای میکوریز، برای هر گلدان، ۳۶ گرم (هر گرم حاوی ۱۰۰ عدد اسپور قارچ) از مایه گونه‌های میکوریزی به بستر کشت پایه افزوده و به‌خوبی با آن آمیخته شد. در هر گلدان چهار عدد دانه لوبیای جوانه‌زده کاشته شد و روی دانه‌ها با لایه‌ای از بستر کشت پایه سترون پوشانده شد. پس از سبز شدن دانه‌های لوبیا، سه گیاهچه در هر گلدان حفظ شدند و گیاهچه‌های اضافی حذف شدند. در این پژوهش کاربرد سویه‌های باکتریایی، به‌صورت تیمار دانه و محلول‌ریزی در خاک (بلافاصله پس از کاشت دانه‌ها) انجام شد. به این صورت که برای تیمارهای دارای باکتری، دانه‌های جوانه‌زده لوبیا قبل از کاشت به مدت یک ساعت درون سوسپانسیون حاوی 10^8 سلول باکتری در میلی‌لیتر قرار گرفتند و پس از پوشاندن دانه‌ها با لایه‌ای از بستر کشت پایه سترون، سوسپانسیون باکتری‌ها به‌صورت تیمار اولین آبیاری به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر به هر گلدان اضافه شد.

دو هفته پس از کشت دانه‌ها (در مرحله دو برگی گیاهچه‌ها)، لوله های پلاستیکی از مرکز گلدان‌ها بیرون آورده شدند و درون فضای خالی به‌جامانده در هر گلدان، ۰٫۰۰۵ گرم دانه ارزن کلنیزه شده توسط *R. solani* که با ورمیکولیت سترون به‌خوبی ترکیب شده بود، اضافه گردید. در تیمار شاهد سالم، ورمیکولیت سترون افزوده شد. گیاهان مایه زنی شده، در شرایط گلخانه به‌صورت کاملاً تصادفی در دمای ۵±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند و آبیاری آن‌ها روزانه با جریان بسیار ملایم آب که حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام کود کامل (Fermolife, NPK+TE, 18-18-18، تهیه شده از شرکت بهاران، اصفهان، نشانی اینترنتی: https://baharan.co) بود، انجام شد.

اندازه‌گیری شدت بیماری پوسیدگی ریشه

دو هفته پس از مایه‌زنی بیمارگر و دیدن نشانه‌های آشکار بیماری در تیمار شاهد آلوده، درجه‌بندی شدت بیماری در تیمارهای مختلف مطابق روش یلدیریم و ارپر (Yildirim and Erper, 2017) با مقیاس درجه‌بندی صفر تا چهار به این صورت انجام شد: ۰) گیاهچه سالم و فاقد بیماری است. ۱) لکه‌ها یا زخم‌های بیماری به‌صورت بسیار سطحی و کم روی ریشه‌ها یا هیپوکوتیل وجود دارند. ۲) لکه‌ها یا زخم‌های بزرگ و عمیق، روی ریشه‌ها یا هیپوکوتیل دیده می‌شوند. ۳) زخم‌های بیماری هیپوکوتیل را احاطه نموده، پوسیدگی شدید ریشه رخ می‌دهد و طول ریشه تا حدودی محدود می‌شود. ۴) پوسیدگی کامل ریشه و مرگ گیاهچه رخ می‌دهد. سپس نمایه شدت بیماری مطابق فرمول زیر (Silva *et al.*, 2020) محاسبه شد:

Disease severity index (DSI) (%) = [Σ(degree of the scale × frequency) / (total number of units evaluated × maximum degree of the scale)] × 100

ارزیابی ویژگی‌های رویشی گیاه لوبیا

پس از ارزیابی شدت بیماری، گیاهان به‌آرامی از گلدان‌ها بیرون آورده شدند و پس از شستشوی ریشه، ویژگی‌های رویشی آن‌ها شامل وزنِ تر، وزن خشک و طول ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری شدند.

ارزیابی میزان کلنیزاسیون ریشه لوبیا توسط قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای در حضور باکتریهای آنتاگونیست منتخب

این ارزیابی با هدف بررسی اثر چهار سویه باکتریایی منتخب بر میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه و احتمال وجود رابطه میان میزان میکوریزی شدن ریشه گیاه با شدت بیماری و با اندکی تغییر مطابق روش فیلیپس و هیمن (Phillips and Hayman, 1970) انجام شد. یک‌دهم گرم از ریشه‌های جوان سه تکرار از هر تیمار میکوریزی، جداسازی شده و با آب مقطر به‌طور کامل شسته شد. ریشه‌ها پس از خرد نمودن به‌صورت تکه‌های نیم تا یک سانتیمتری، به لوله‌های حاوی هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد منتقل شدند و جهت رنگ‌بری بافت، به مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و پس از چند مرتبه شستشوی کامل با آب، ۵ دقیقه در محلول اسیدکلریدریک یک درصد قرار داده شدند. سپس بدون آنکه شسته شوند، به مدت یک ساعت در محلول لاکتوگلیسرول اسید فوشین ۰/۰۱ درصد و یک ساعت نیز در حمام آب گرم ۹۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و به مدت ۳۰ دقیقه در محلول لاکتوگلیسرول نگهداری شدند. تکه‌های رنگ‌آمیزی شده ریشه درون محلول تثبیت‌کننده قرار گرفتند. از ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده مربوط به هر تکرار، ۱۰۰ تکه به روی لام منتقل و از نظر وجود اندام‌های مربوط به AMF با میکروسکوپ نوری

بررسی شدند و درصد کلنیزاسیون ریشه طبق روش آتوا (Atwa, 2018) تعیین شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به دست‌امده از آزمون‌های گلخانه‌ای و آزمایشگاهی با روش تجزیه واریانس در نرم‌افزار SAS (نسخه 9.4) واکاوی آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و احتمال خطای آماری پنج درصد انجام شد.

نتایج

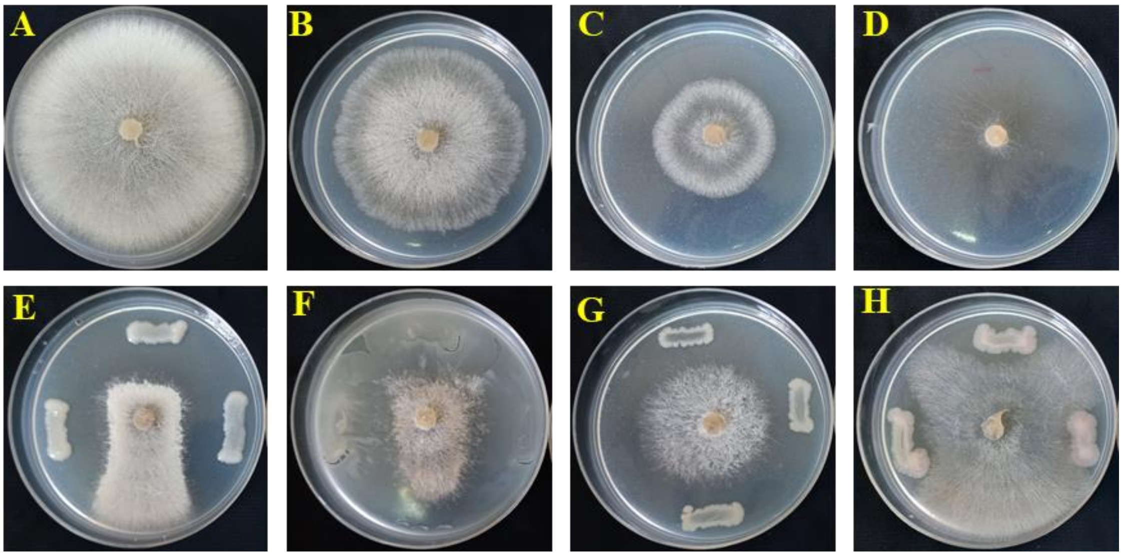
بازدارندگی از رشد بیمارگر *Rhizoctonia solani* توسط PGPR در شرایط درون شیشه‌ای

در آزمون کشت متقابل، از ۱۴ سویه باکتریایی بررسی‌شده، شش سویه *B. subtilis* BS، *Bacillus velezensis* JPS19، *Alcaligenes faecalis* 1624، *Azotobacter vinelandii*، *Lysinibacillus boronitolerans* RUPB71 و *Delftia tsuruhatensis* PIIR اثر بازدارندگی معنی‌داری روی رشد بیمارگر *R. solani* نشان دادند (شکل ۱). دامنه بازدارندگی از رشد میسلیوم بیمارگر در تیمارهایی که دارای اختلاف معنی‌دار با شاهد بودند، بین ۱۵،۱۱ تا ۵۸،۲۲ درصد بود (جدول ۱). بین میزان بازدارندگی این سویه‌ها نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت.

در بررسی توانایی تولید ترکیبات فرار نیز سه سویه *A. faecalis* 1624، *A. vinelandii* و *B. thuringiensis* B48Pet توانستند با اختلاف معنی‌دار از شاهد، در دامنه ۱۹،۵۶ تا ۳۱،۱۱ درصد از رشد میسلیوم بیمارگر جلوگیری نمایند (جدول ۱).

اثر قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای و سویه‌های باکتریایی منتخب بر شدت بیماری بوته‌میری ریزوکتونیایی لوبیا در شرایط گلخانه

به‌استثنای تیمارهای تنهای سویه‌های باکتریایی Alca و B.vel و سه تیمار دوگانه باکتریایی و میکوریزی B.s+F.moss، B.vel+F.moss و B.s+G.cla، سایر تیمارها به کاهش معنی‌دار شدت بیماری نسبت به شاهد بیمار در دامنه ۱۲،۰۷ (تیمار Azoto) تا ۳۶،۵۱ درصد (تیمار B.s) انجامیدند. بین برخی تیمارها نیز از نظر اثر بر شدت بیماری، اختلاف معنی‌داری وجود داشت (شکل ۲).



شکل ۱- بازدارندگی از رشد ریسه‌های قارچ بیمارگر (*Rhizoctonia solani*) توسط برخی سویه‌های باکتریایی در آزمون‌های تولید ترکیبات فرار (B-D) و کشت متقابل (E-H)

Figure 1- Inhibition of the pathogenic fungus (*Rhizoctonia solani*) by some bacterial strains in volatile compounds production (B-D) and dual-culture (E-H) tests

A) Control (*Rhizoctonia solani*), B) *B. thuringiensis* B48Pet, C,H) *Alcaligenes faecalis* 1624, D) *Azotobacter vinelandii*, E) *Bacillus subtilis* BS, F) *Bacillus velezensis* JPS19, G) *Lysinibacillus boronitolerans* RUPB71

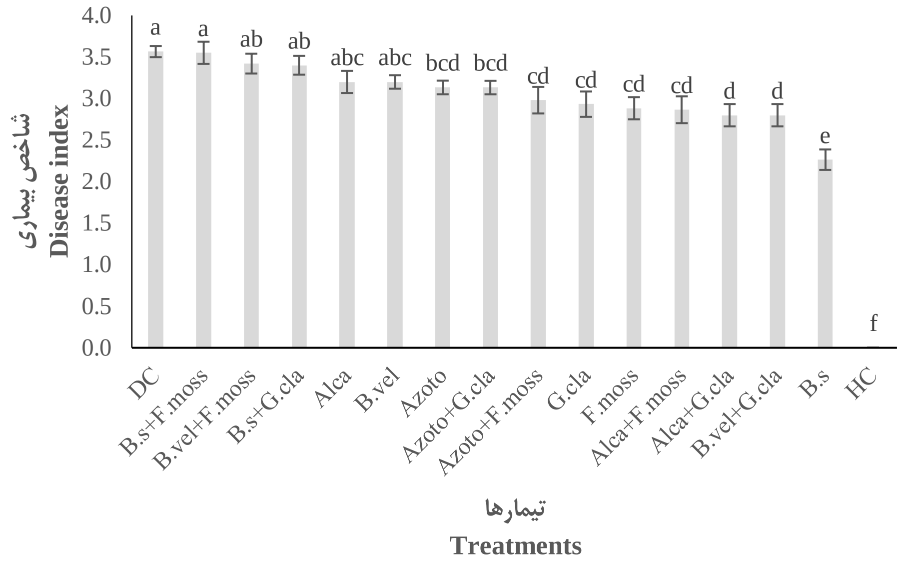
جدول ۱- اثر سویه‌های باکتریایی روی رشد پرگنه قارچ *Rhizoctonia solani* در آزمون‌های کشت متقابل و تولید ترکیبات فرار روی محیط PDA

اعداد جدول، میانگین داده‌های سه تکرار هستند. مقایسه میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون دانکن (آلفا = ۵ درصد) انجام شد. میانگین‌های دارای حروف مشترک، با هم اختلاف آماری معنی‌داری ندارند.

Table 1- The influence of bacterial probiotic strains on the growth of *Rhizoctonia solani* colony in dual culture and volatile compounds production tests on PDA

Data are means of the data from three replicates. The means were compared using Duncan's test (α = 5). The means with common letters are not of statistically significant difference.

تیمار Treatment	درصد بازدارندگی توسط ترکیبات فرار Inhibition by volatiles (%)	درصد بازدارندگی در کشت متقابل Inhibition in dual culture (%)
Arthrobacter citreus B27Pet	4.44 c	0 e
Alcaligenes faecalis 1624	31.11 a	35.11 b
Azotobacter vinelandii RUA1	30.22 a	27.56 c
Bacillus megaterium B15	0 c	0 e
Bacillus pumilus INR7	0 c	0 e
Bacillus subtilis AS	0 c	0 e
Bacillus subtilis BS	0 c	56.44 a
Bacillus thuringiensis 32B	0 c	0 e
Bacillus thuringiensis B48Pet	19.56 b	0 e
Bacillus velezensis JPS19	0 c	58.22 a
Delftia tsuruhatensis PIIR	0 c	15.11 d
Lysinibacillus boronitolerans RUPB71	0 c	23.56 c
Pseudomonas putida RUP1	0 c	0 e
Stenotrophomonas maltophilia S37	0 c	0 e
Control	0 c	0 e



شکل ۲- اثر تیمار سویه‌های باکتریایی منتخب و قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای بر شدت بیماری ناشی از قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani* در گلخانه

اعداد درون شکل، میانگین داده‌های پنج تکرار هستند. مقایسه میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون دانکن (آلفا = ۵ درصد) انجام شد. میانگین‌های دارای حروف مشترک، با هم اختلاف آماری معنی‌داری ندارند (نام‌های کامل تیمارها در ادامه زیرنویس انگلیسی همین شکل آورده شده‌اند).

Figure 2- The effect of treatment by probiotic bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on the severity index of the disease caused by the pathogenic fungus *R. solani* in greenhouse

Data are means of the data from five replicates. The means were compared using Duncan's test (α = 5). The means with common letters are not of statistically significant difference. The abbreviations used in treatment names are as follows: DC: Diseased control, HC: Healthy control, Alca: *Alcaligenes faecalis* 1624, Azoto: *Azotobacter vinelandii*, B.s: *Bacillus subtilis* BS, F.moss: *Funneliformis mosseae*, B.vel: *Bacillus velezensis* JPS19, G.cla: *Glomus claroideum*.

اثر قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای و سویه‌های باکتریایی منتخب بر ویژگی‌های رویشی گیاه لوبیا در حضور بیمارگر *R. solani* در شرایط گلخانه

تیمارهای B.vel+ G.cla و Alca+G.cla، Alca و B.s در مقایسه با شاهد بیمار سبب افزایش معنی‌دار طول اندام هوایی شدند. این افزایش در محدوده ۱۴٫۳۴ درصد (تیمار Alca+G.cla) تا ۲۹٫۹۷ درصد (تیمار B.s) بود. تیمار B.s با شاهد سالم در یک گروه قرار داشت. سایر تیمارهای ذکر نشده نیز با شاهد بیمار در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۲). افزایش معنی‌دار وزنِ تر اندام هوایی نسبت به شاهد بیمار نیز در کلیه تیمارهای جداگانه و دوگانه سویه‌های باکتریایی منتخب و میکوریزهای دارسانه‌ای و در محدوده بین ۳۴٫۷۰ (تیمار B.s+ F.moss) تا ۱۸۲٫۲۶ درصد (تیمار B.s) دیده شد (شکل ۳). همچنین در مقایسه با شاهد بیمار کلیه تیمارهای جداگانه و دوگانه، در محدوده ۳۲٫۵۰ (تیمار B.s+F.moss) تا ۱۳۵ درصد (تیمار B.s)، سبب افزایش معنی‌دار وزنِ خشک اندام هوایی شدند.

در این پژوهش تیمارهای F.moss، B.s، Alca و Azoto سبب افزایش معنی‌دار طول ریشه در محدوده ۱۴٫۰۷ (تیمار F.moss) تا ۳۷٫۸۹ درصد (تیمار B.s) شدند. همچنین دو تیمار B.s و Alca این شاخص را با اختلاف معنی‌دار نسبت به شاهد سالم به ترتیب ۱۴٫۹۵ و ۱۱٫۵۴ درصد افزایش دادند. به‌استثنای تیمارهای B.s+F.moss و B.vel همه تیمارها وزنِ تر ریشه را به‌طور معنی‌داری از ۵۳٫۴۶ (تیمار B.vel+ F.moss) تا ۱۶۳٫۳۶ درصد (تیمار B.s) افزایش دادند و تیمار B.s با شاهد سالم در یک گروه آماری قرار گرفت. همچنین، به‌استثنای تیمارهای B.s+F.moss، B.vel، Azoto+ G.cla، Azoto+ F.moss و B.vel+ F.moss، وزنِ خشک ریشه توسط سایر تیمارها نسبت به شاهد بیمار بین ۵۰ (تیمار F.moss) تا ۱۵۰ درصد (تیمار B.s) افزایش معنی‌داری یافت و B.s از نظر این ویژگی رویشی، با شاهد سالم در یک گروه آماری قرار گرفت.

جدول ۲- اثر تیمار سویه‌های باکتریایی منتخب و قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای بر ویژگی‌های رویشی لوبیای رقم Early Khameneh 535 در حضور قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani* در گلخانه

اعداد درون جدول، میانگین داده‌های پنج تکرار هستند. مقایسه میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون دانکن (آلفا = ۵ درصد) انجام شد. میانگین‌های دارای حروف مشترک، با هم اختلاف آماری معنی‌داری ندارند. (نام‌های کامل تیمارها در ادامه توضیح انگلیسی همین جدول آورده شده‌اند).

Table 2- The effect of treatment by probiotic bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on bean growth parameters at the presence of the pathogenic fungus *R. solani* in greenhouse

Data are means of the data from five replicates. The means were compared using Duncan's test (α = 5). The means with common letters are not of statistically significant difference. The abbreviations used in treatment names are as follows: DC: Diseased control, HC: Healthy control, Alca: *Alcaligenes faecalis* 1624, Azoto: *Azotobacter vinelandii*, B.s: *Bacillus subtilis* BS, F.moss: *Funneliformis mosseae*, B.vel: *Bacillus velezensis* JPS19, G.cla: *Glomus claroideum*.

تیمار Treatment	طول اندام هوایی Shoot length (cm)	طول ریشه Root length (cm)	وزن تر اندام هوایی Shoot wet wight (g)	وزن تر ریشه Root wet wight (g)	وزن خشک ریشه Root dry wight (g)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry wight (g)
Alca+F.moss	20 f	14.04 def	8.63 d	2.31 b	0.12 bc	0.79 cde
Alca+G.cla	22.16 de	13.69 defg	7.37 ef	2.19 bc	0.11 cd	0.84 bc
Alca	24.39 bc	17.3 a	8.03 de	2.09 bcd	0.13 b	0.83 bcd
Azoto+F.moss	20.85 ef	14.28 cde	7.55 e	1.6 f	0.08 fg	0.66 fg
Azoto+G.cla	20.59 ef	14.29 cde	6.59 g	1.74 ef	0.07 g	0.62 fg
Azoto	21.13 ef	16.63 ab	7.85 e	1.91 cde	0.13 b	0.69 def
B.s	25.19 ab	17.83 a	10.98 b	2.66 a	0.15 a	0.94 b
B.vel	20.23 f	12.59 g	6.62 g	1.16 g	0.07 fg	0.71 cdef
B.s+F.moss	19.49 fg	13.8 defg	5.24 h	0.77 h	0.06 g	0.53 g
B.s+G.cla	20.3 f	13.83 defg	7.86 e	2.09 bcd	0.1 cde	0.68 defg
B.vel+F.moss	18.06 g	12.89 fg	6.28 g	1.55 f	0.08 fg	0.61 fg
B.vel+G.cla	23.46 cd	13.66 defg	9.48 c	1.89 de	0.11 bcd	0.81 bcde
DC	19.38 fg	12.93 efg	3.89 i	1.01 gh	0.06 g	0.4 h
F.moss	20.19 f	14.75 cd	6.71 fg	1.62 ef	0.09 ef	0.7 cdef
G.cla	20.85 ef	13.65 defg	8.03 de	1.82 def	0.1 de	0.70 cdef
HC	26.61 a	15.51 bc	12.23 a	2.71 a	0.16 a	1.02 a



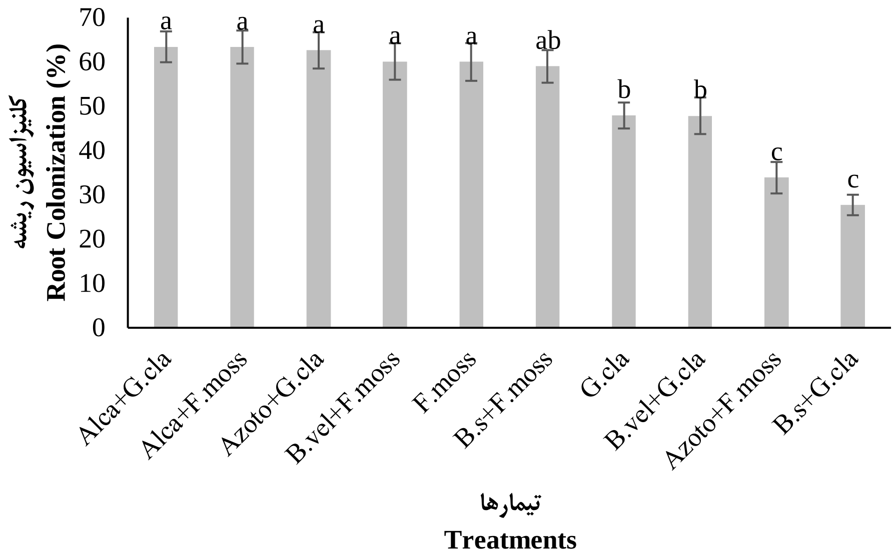
شکل ۳- وضعیت رشد و بروز بیماری ناشی از قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani* در گیاهان لوبیای تیمار شده با برخی سویه‌های باکتریایی منتخب و قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای در گلخانه

Figure 3- Growth status and occurrence of the disease caused by the pathogenic fungus *Rhizoctonia solani* in bean plants treated with some selected bacterial strains and arbuscular mycorrhizal fungi in the greenhouse

A) *Azotobacter vinelandii*, B) *Bacillus subtilis* BS, C) *Funneliformis mosseae*, D) *Bacillus velezensis* JPS19 + *Glomus claroideum*, E) *Alcaligenes faecalis* 1624 + *G. claroideum*, F) Healthy control, G) Diseased control.

وضعیت کلنیزاسیون ریشه‌ها

در این پژوهش کلیه تیمارهای حاوی میکوریز (منفرد و دوگانه) توانستند ریشه‌های لوبیا را بیش از ۲۷ درصد کلنیزه نمایند. بین میزان کلنیزاسیون ریشه لوبیا توسط تیمارهای مختلف حاوی میکوریز، اختلاف معنی‌دار وجود داشت و محدوده کلونیزاسیون ریشه در میان تیمارهای مختلف بین ۶۳٫۴۲ (Alca+G.cla) و ۲۷٫۷۱ (B.s+G.cla) درصد قرار داشت (شکل ۴). در مجموع همبستگی معنی‌داری بین میزان کلونیزاسیون ریشه و شدت بیماری تیمارها وجود نداشت (r=۰٫۰۰۸۷، p value=۰٫۹۵۲۲).



شکل ٤- میزان کلنیزاسیون ریشه‌های لوبیای رقم Early Khameneh 535 توسط قارچ‌های میکوریزی دارسانه‌ای

مقایسه میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون دانکن (آلفا = ۵ درصد) انجام شد. میانگین‌های دارای حروف مشترک، با هم اختلاف آماری معنی‌داری ندارند (نام‌های کامل تیمارها در ادامه زیرنویس انگلیسی همین شکل آورده شده‌اند).

Figure 4- Colonization rate by arbuscular mycorrhizal fungi in the roots of bean plants variety Early Khameneh 535

The means were compared using Duncan's test (α = 5). The means with common letters are not of statistically significant difference. The abbreviations used in treatment names are as follows: Alca: *Alcaligenes faecalis* 1624, Azoto: *Azotobacter vinelandii*, B.s: *Bacillus subtilis* BS, F.moss: *Funneliformis mosseae*, B.vel: *Bacillus velezensis* JPS19, G.cla: *Glomus claroideum*.

بحث

در این پژوهش، از ۱۴ سویه باکتریایی بررسی شده در شرایط درون شیشه‌ای، در آزمون کشت متقابل، شش سویه شامل *B. subtilis* BS، *B. velezensis* JPS19، *A. faecalis* 1624، *A. vinelandii*، *L. boronitolerans* RUPB71 و *D. tsuruhatensis* PIIR و در آزمون توانایی تولید ترکیبات فرار، سه سویه شامل *A. faecalis* 1624، *A. vinelandii* RUA1 و *B. thuringiensis* B48Pet توانستند با اختلاف معنی‌دار از شاهد، از رشد میسلیوم بیمارگر جلوگیری نمایند. در پژوهش‌های آزمایشگاهی دیگر نیز به اثرات بازدارنده و خواص ضدقارچی سویه‌هایی از جنس‌ها یا گونه‌های مؤثر به کار رفته در این پژوهش اشاره شده است. به‌عنوان‌مثال، سویه‌هایی از باکتری‌های *Azotobacter chroococcum* (Alsudani and Raheem Lateef; Al-Awsi, 2020)، *B. subtilis* (Matloob and Juber, 2013; Huang *et al*., 2017; Hussain and Khan, 2020; Ouhaibi-Ben Abdeljalil *et al*., 2021) و *A. faecalis* (Honda *et al*., 1999; Zhang *et al*., 2016)، در برابر *R. solani* کارآمد بوده‌اند. کاهش رشد میسلیوم قارچ و تشکیل مناطق بازدارنده توسط PGPR را احتمالاً می‌توان به تولید ترکیبات ضدقارچی مانند آنتی‌بیوتیک، متابولیت‌های سمی یا سیدروفورها و یا آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی آزاد شده در محیط کشت توسط باکتری‌ها نسبت داد (Fatima *et al*., 2009; Swadling and Jeffries, 1996).

در میان چهار سویه منتخب باکتریایی برای بررسی در گلخانه، دو سویه باکتریایی Azoto و B.s در گلخانه نیز در مقایسه با شاهد بیمار، شدت بیماری را به‌طور معنی‌دار کاهش دادند. گزارش‌های بسیاری وجود دارد که در آن‌ها کارایی سویه‌هایی از *B. subtilis* در برابر *R. solani* در گیاهان مختلف نظیر گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی و لوبیا (Abbas *et al*., 2019; Donmez *et al*., 2015; Ouhaibi-Ben Abdeljalil *et al*., 2016)، و نیز کارایی سویه‌ها یا گونه‌های دیگری از جنس *Azotobacter* (نظیر *Azotobacter chroococcum*) علیه *R. solani* در گندم (Fatima *et al*., 2009; Maheshwari *et al*., 2012) و خردل (Verma *et al*., 2001) به اثبات رسیده است. با توجه به اینکه این دو سویه در آزمایشگاه با تولید متابولیت‌های ضدمیکروبی اثر خوبی بر مهار رشد میسلیوم بیمارگر داشتند، بنابراین اثر بازدارندگی این دو سویه بر *R. solani* در خاک را می‌توان تا حدودی به تولید متابولیت‌ها و ترکیبات بازدارنده توسط آن‌ها نسبت داد. در برخی موارد دیگر نیز بیان شده که آنتی‌بیوتیک‌های تولید شده توسط آنتاگونیست های میکروبی، نقش کلیدی در سرکوب بیمارگرهای مختلف موجود در خاک ایفا می‌کنند (Braun *et al*., 2010). اعضای جنس باسیلوس قادرند طیف گسترده‌ای از آنتی‌بیوتیک‌ها (Aboelmagd, 2021) را

تولید نموده و توانایی رقابت با بیمارگرها، تولید سیدروفور و نیز القای پاسخ‌های دفاعی میزبان را دارند (Choudhary and Johri, 2009; Mekonnen and Fenta, 2020; Ouhaibi-Ben Abdeljalil *et al*., 2021). سویه‌های *Azotobacter* spp. نیز قادرند از طریق تولید سیدروفور و رقابت برای کسب آهن و همچنین تولید مواد ضد قارچی با بیمارگر مقابله نمایند (Matloob and Juber, 2013; Neilands, 1993; Sumbul *et al*., 2020). همچنین در پژوهش حاضر، دو سویه باکتریایی Azoto و B.s علاوه بر اثرات ضدقارچی، توانستند رشد گیاهان لوبیا را با وجود بیمارگر افزایش دهند که تأییدکننده نتایج محققین دیگر در مورد نقش باسیلوس (Donmez *et al*., 2015; Huang *et al*., 2017; Hussain and Khan, 2020) و ازتوباکتر (Fatima *et al*., 2009; Maheshwari *et al*., 2012; Verma *et al*., 2001) در بهبود رشد گیاه است. علاوه بر این، برخی پژوهشگران معتقدند که آنتاگونیست‌ها با سازوکارهای مختلف رشد قارچ‌های بیمارگر را مهار می‌نمایند و چنین بازدارندگی از رشد قارچ، می‌تواند به‌طور غیرمستقیم از رشد گیاه حمایت نماید (Kai *et al*., 2007).

در این پژوهش، دو سویه باکتریایی Alca و B.vel که در آزمایشگاه سبب مهار رشد میسلیوم بیمارگر شدند، در شرایط گلخانه اثر معنی‌داری در کاهش بیماری نداشتند. در تعدادی از پژوهش‌های دیگر نیز برخی آنتاگونیست‌ها نتایج متناقضی در آزمایشگاه و گلخانه نشان داده‌اند (Donmez *et al*., 2015; Jamali *et al*., 2005; Knudsen *et al*., 1997; Moarrefzadeh *et al*., 2021b). در شرایط طبیعی خاک، برهمکنش‌های میان گیاه میزبان، بیمارگر و آنتاگونیست پیچیده بوده و عوامل بیوکنترل علاوه بر بیمارگر هدف، با گیاه و میکروفلور ساکن خاک و بستر رشد نیز برهمکنش دارند و این عوامل ممکن است بر اثربخشی عوامل بیوکنترل تأثیرگذار باشند (Köhl *et al*., 2019; Lemanceau and Alabouvette, 1993; Sharifi and Ryu, 2020). همچنین، تغییر در میزان کلنیزاسیون ریشه توسط باکتری‌ها و متابولیت‌های مؤثر آن‌ها در بیوکنترل و نیز فعالیت و پایداری محدود باکتری‌ها پس از رهاسازی آن‌ها در خاک، ممکن است سبب از دست رفتن برخی خصوصیات مهم آن‌ها گردد (Keel and Défago, 1997). در این پژوهش، هرچند دو سویه باکتریایی Alca و B.vel اثر معنی داری بر کاهش بیماری نداشتند، اما توانستند برخی ویژگی‌های رویشی مورد بررسی را بهبود بخشند.

در این پژوهش، استقرار دو گونه میکوریز F.moss و G.cla در ریشه‌های لوبیا، علاوه بر کاهش شدت بیماری، سبب بهبود ویژگی‌های رویشی بررسی شده در حضور بیمارگر شد که با یافته‌های محققین دیگر در مورد نتایج کاربرد گونه‌های مختلف میکوریزی در لوبیا و محصولات دیگر مطابقت داشت (Amer and Abou El, 2008; Kareem and Hassan, 2014; Matloob and Juber, 2013; Mohammadi *et al*., 2020; Nasir Hussein *et al*., 2018; Wu *et al*., 2021). پیشنهاد شده که AMF با سازوکارهای مختلف سبب کاهش آسیب های ناشی از بیمارگرهای گیاهی خاکزاد و مهار بیماری می‌شوند که از آن جمله می‌توان به رقابت با بیمارگرهای خاکزاد بر سر جایگاه‌های آلودگی (Wu *et al*., 2021) و محصولات فتوسنتزی میزبان (Aljawasim *et al*., 2020)، کاهش یا جبران آسیب وارده به ریشه (Abdel-Fattah *et al*., 2011)، تولید هورمون‌های رشد در گیاهان میزبان میکوریزی شده (Jentschel *et al*., 2007; Zhou *et al*., 2019) و فعال‌سازی سازوکارهای دفاعی و القای مقاومت سیستمیک در برابر بیمارگرها (Abdel-Fattah *et al*., 2011; Aboelmagd, 2021; Aljawasim *et al*., 2020; Amer and Abou El, 2008; Matrood and Al-Taie, 2017; Miozzi *et al*., 2019; Shasmita *et al*., 2019) اشاره نمود. دلیل تأثیر مثبت کلنیزاسیون AMF بر رشد گیاه را نیز شاید بتوان به نقش آنها در بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاهان میزبان (Atwa, 2018) و یا محدود نمودن رشد *R. solani* و مهار بیماری نسبت داد (Matloob and Juber, 2013).

در پژوهش حاضر، کاربرد گونه‌های میکوریزی F.moss و G.cla به‌صورت ترکیبی با باکتری‌ها در مقایسه با شاهد بیمار، در همه تیمارها (به‌استثنای B.s+F.moss، B.vel+F.moss و B.s+G.cla)، سبب کاهش شدت بیماری و افزایش ویژگی‌های رویشی بررسی شده گردید. بنابراین در بیشتر موارد، ترکیب عوامل میکروبی به کار رفته سازگار بوده و اثر مفیدی در مهار بیماری و افزایش رشد گیاه داشت که با نتایج برخی از محققین دیگر مطابقت دارد (Atwa, 2018; Matloob and Juber, 2013). اما تیمارهای تلفیقی AMF و PGPR با اینکه سازگار بودند، مگر در یک مورد (اثر افزایشی G.cla+B.vel بر وزن تر و طول اندام هوایی در مقایسه با کاربرد B.vel و G.cla به‌تنهایی)، نسبت به کاربرد جداگانه هر یک از این عوامل، اثر افزایشی و یا هم‌افزایی در کاهش بیماری و افزایش رشد گیاه نداشتند که با نتایج پژوهش‌های پیشین همخوانی دارد (Imperiali *et al*., 2017; Moarrefzadeh *et al*., 2021c). در مقابل، برخی پژوهش‌ها رخ دادن برهمکنش‌های هم‌افزا یا افزایشی بین AMF و PGPR و افزایش حفاظت زیستی علیه بیماری‌های خاکزاد و بهبود ویژگی‌های رویشی گیاه را نشان می‌دهند (Matloob and Juber, 2013; Matrood and Al-Taie, 2017; Mohamed *et al*., 2019). در توضیح این موضوع بیان شده که برهمکنش‌های زیرزمینی میان ریشه‌های گیاه، AMF و PGPR ممکن است سلامت و رشد گیاه را از طریق تأثیرات مکمل و هم‌افزا بر حل شدن و جذب مواد غذایی و نیز فعال کردن مسیرهای دفاع چندگانه و افزایش القای مقاومت سیستمیک در میزبان در برابر بیمارگرها بهبود بخشد (Bagyaraj, 2018; Pérez-de-Luque *et al*., 2017). علاوه بر حالات ذکر شده در بالا، در پژوهش حاضر برخی تیمارهای دوگانه از نظر مهار بیماری و افزایش رشد گیاه اثر ضعیف‌تری نسبت به

تیمارهای منفرد آن‌ها داشتند؛ به‌عنوان‌مثال، اثر ترکیب‌های B.s+F.moss، B.vel+ F.moss و B.s+G.cla بر بیماری به‌طور معنی‌داری کمتر از کاربرد منفرد میکوریزها بوده و گاه با شاهد بیمار در یک گروه آماری قرار داشت. همچنین، کاربرد B.s به‌تنهایی در کاهش بیماری و بهبود کلیه ویژگی‌های رویشی گیاه، نسبت به ترکیب آن با F.moss (B .s+F.moss) یا G.cla (B.s+ G.cla) کارآمدتر بود. برخی پژوهشگران نیز دریافته‌اند که ترکیب برخی عوامل زیستی، اثر ضعیف‌تری نسبت به تیمار جداگانه آن‌ها دارد (Castillo *et al.*, 2019; Larkin and Fravel, 1998; Moarrefzadeh *et al.*, 2021c). ممکن است AMF و ریزوباکتری‌ها، علاوه بر اثرات محرک (Barea *et al.*, 1998)، اثرات بازدارنده‌ای روی یکدیگر یا روی رشد گیاهان و بیمارگرها از خود نشان دهند (Söderberg *et al.*, 2002). در توضیح این مطلب، به دلایل مختلفی اشاره شده است؛ از یک‌سو به دلیل پیچیدگی برهمکنش‌ها و روابطی که میان گیاهان–میکروارگانیسم‌ها و نیز میکروارگانیسم‌های مختلف با یکدیگر ایجاد می‌شود، ممکن است رفتار عوامل زیستی به‌تنهایی، در مقایسه با زمانی که عوامل پیرامونی دیگر نظیر سایر عوامل میکروبی وجود دارند، بسیار متفاوت باشد (Moarrefzadeh *et al.*, 2021c). از سوی دیگر ممکن است در میان میکروارگانیسم‌های مفید مهارکننده یک بیمارگر، برخی برهمکنش‌های آنتاگونیستی مانند رقابت رخ داده و یا مواد متابولیتی تولید شده توسط عوامل کنترل زیستی که به فعالیت آنتاگونیستی آن‌ها در برابر قارچ‌های بیماریزا کمک می‌کنند، بر سایر میکروارگانیسم‌های مفید نیز تأثیرگذار بوده و در کار آن‌ها تداخل ایجاد کنند (Castillo *et al.*, 2019; Chiarini et al., 1998; Linderman, 2000; Wahyuno *et al.*, 2016). بنابراین، هرچند که در بسیاری از منابع به استفاده از ترکیب آنتاگونیست‌ها توصیه شده است، اما طبق نتایج این پژوهش، استفاده از ترکیب عوامل میکروبی همیشه کارآمدتر نیست و میکوریز و باکتری فقط در برخی ترکیب‌های مناسب می‌توانند شدت بیماری ناشی از *R. solani* در لوبیا را کاهش دهند. لذا قبل از کاربرد ترکیب عوامل زیستی در سیستم مورد نظر، باید اثرات برهمکنش‌های میان موجودات را بررسی و اطمینان حاصل نمود که این عوامل با هم سازگار بوده و بر یکدیگر تأثیر آنتاگونیستی ندارند (Martínez-Medina *et al.*, 2009; Pascual, 2016).

در این پژوهش همه تیمارهای منفرد و دوگانه حاوی میکوریز توانستند ریشه‌های لوبیا را کلنیزه نمایند و بین میزان کلنیزاسیون محاسبه‌شده در برخی تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشت. AMF می توانند با ریشه بیشتر گیاهان خشکی‌زی یک رابطه همزیستی سودمند ایجاد کنند (Shi *et al.*, 2012)، اما میزان کلنیزاسیون، بسته به نوع گیاه میزبان و نوع AMF بسیار متفاوت است (Chen *et al.*, 2017). همچنین در پژوهش حاضر، از نظر اثر PGPR بر کلنیزاسیون میکوریزی ریشه حالات مختلف افزاینده، خنثی و کاهنده دیده شد؛ در حالت اول، ترکیب میکوریز G.cla با برخی باکتری‌ها (Alca+G.cla و Azoto+G.cla) در مقایسه با کاربرد تنهای آن، سبب افزایش معنی‌دار کلنیزاسیون میکوریزی ریشه گردید. در برخی پژوهش‌های دیگر نیز گزارش شده که برخی سویه‌های باکتریایی موجب تحریک جوانه‌زنی اسپور و رشد میسلیوم (Meyer and Linderman, 1986) و افزایش کلنیزاسیون ریشه توسط AMF می‌شوند (Arthurson *et al.*; Priyadharsini *et al.*, 2016) و چنین باکتری‌هایی که برای قارچ های میکوریزی مفید هستند، به‌عنوان باکتری‌های حامی میکوریز (Mycorrhiza helper bacteria) شناخته می‌شوند (Akhtar and Siddiqui, 2008). در حالت دوم در این پژوهش، در هیچ‌کدام از تیمارهای دوگانه میکوریز F.moss و باکتری‌ها در مقایسه با کاربرد منفرد این میکوریز، تغییری در کلنیزاسیون دیده نشد. و در حالت سوم، ترکیب میکوریز با باکتری‌ها (Azoto+F.moss و B.s+G.cla) نسبت به کاربرد جداگانه آن‌ها (تیمارهای F.moss و G.cla به‌تنهایی) سبب کاهش کلنیزاسیون ریشه گردید. این نتایج نشان می‌دهد ممکن است اثر PGPR بر کلنیزاسیون میکوریزی ریشه- بسته به سویه باکتریایی و میکوریزی مورد استفاده- افزاینده، بی‌اثر یا کاهنده باشد که تأییدکننده نتایج بررسی‌های قبلی است که در آن‌ها به اثرات محرک یا بازدارنده PGPR بر رشد میکوریز اشاره شده است (Barea *et al.*, 1998; Söderberg *et al.*, 2002). نکته جالب‌توجه این بود که با وجود کاهش کلنیزاسیون میکوریزی ریشه در برخی تیمارهای مذکور نظیر Azoto+ F.moss، نسبت به تیمار جداگانه میکوریز، کاهش اثر در مهار بیماری دیده نشد. در برخی موارد نیز ذکر شده که با اینکه سطح کلنیزاسیون ریشه توسط اندومیکوریزها نسبتاً پایین بوده، آن‌ها سبب ایجاد مقاومت یا تحمل در برابر *R. solani* گردیده‌اند و اثرات مفید آن ها بر رشد، عملکرد و محافظت در برابر عفونت *R. solani* دیده شده است (Gianinazzi *et al.*, 2010; Larkin, 2008; Yao *et al.*, 2002). از سوی دیگر، در پژوهش حاضر در ترکیب‌هایی که نسبت به کاربرد جداگانه میکوریز G.cla، افزایش کلنیزاسیون میکوریزی وجود داشت (Alca+G.cla و Azoto+G.cla)، نسبت به اثر کاربرد منفرد میکوریز G.cla و یا در ترکیب Alca+ F.moss نسبت به F.moss به تنهایی، اثر معنی‌داری بر شدت بیماری دیده نشد. فقط در یک تیمار دوگانه B.s+G.cla که نسبت به کاربرد تنهای G.cla کاهش کلنیزاسیون میکوریزی وجود داشت، اثر این ترکیب نسبت به G.cla در کاهش بیماری به‌طور معنی‌داری کمتر بود. بنابراین در پژوهش حاضر در بسیاری از موارد، بین میزان کلنیزاسیون میکوریزی ریشه و مهار بیماری رابطه مستقیمی وجود نداشت. برخی پژوهش‌های دیگر نیز نبودن همبستگی بین میزان کلنیزاسیون میکوریزی و کاهش بیماری در گیاه میزبان را گزارش کرده‌اند (Mark and Cassells, 1996; St-Arnaud *et al.*, 1994). طبق نظر برخی پژوهشگران، تأثیر همزیستی AMF بر سلامت گیاه، بیشتر به ژنوتیپ‌های گیاه میزبان و بیمارگر

بستگی دارد تا به میزان کلنیزاسیون AMF (Dugassa *et al*., 1996).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش اکثر تیمارهای زیستی اعمال شده به‌صورت جدا و ترکیبی، سبب کاهش شدت بیماری (اثر نامطلوب بیمارگر) و افزایش صفات رویشی لوبیا شدند و تیمارهای دوگانه، در مقایسه با کاربرد جداگانه هر یک از عوامل زیستی (به‌استثنای یک مورد) اثر افزایشی و یا هم‌افزایی بر شاخص‌های بررسی شده نداشتند. با نگرش به این نتایج می‌توان گفت استفاده از ترکیب عوامل کنترل زیستی نسبت به کاربرد جداگانه هر یک از این عوامل همیشه کارآمدتر نبوده و نتایج، با توجه به سویه باکتری و گونه قارچ میکوریزی که با هم ترکیب می‌شوند، متفاوت است. بنابراین، PGPR و AMF فقط در برخی ترکیب‌های مناسب قادرند مقاومت لوبیا را نسبت به *R. solani* افزایش دهند. لذا، قبل از کاربردی نمودن ترکیب عوامل زیستی در سیستم مورد نظر، لازم است برهمکنش‌های آن‌ها را در آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای دقیقاً بررسی نموده و از سازگاری و عدم تأثیر آنتاگونیستی آن‌ها بر یکدیگر اطمینان حاصل نمود. همچنین، کاربرد همیاری‌های (کنسرسیوم‌های) سازگار میکروارگانیسم‌ها، به دلیل نیازهای گوناگون رشدی و ارائه سازوکارهای مختلف در مهار بیماری، قادر است اثر بیوکنترلی پایدارتر، کارآمدتر و قابلیت اطمینان بیشتری را در طیف وسیع تری از شرایط محیطی متغیر خاک داشته باشد (Stockwell *et al*., 2011; Szczech, 2008). بنابراین توصیه می‌شود در پژوهش‌های آینده، اثر ترکیب عوامل باکتریایی و میکوریزی که در این پژوهش کارایی خوبی در کنترل زیستی *R. solani* و تحریک رشد لوبیا داشته اند، با سویه‌ها یا گونه‌های میکروبی دیگر بر مهار بوته‌میری ریزوکتونیایی لوبیا بررسی شده و در صورت مثبت بودن نتایج، بهترین و موفق‌ترین گزینه‌ها که بتوانند در افزایش رشد و بهبود عملکرد گیاه و کاهش بیماری هم‌افزا باشند، انتخاب و پس از تأیید کارایی آن‌ها در مزرعه مورد استفاده گسترده و تجاری قرار گیرند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از پروفسور کلوپر (دانشگاه آبرن، ایالات‌متحده آمریکا) و دکتر سونیا سیفی (دانشگاه پیام نور، کرمانشاه) به دلیل در اختیار نهادن برخی جدایه‌های باکتریایی تشکر می‌نمایند.

منابع

1- Abbas, A., Khan, S.U., Khan, W.U., Saleh, T.A., Khan, M.H.U., Ullah, S., Ali, A., & Ikram, M. (2019). Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. *Comptes Rendus Biologies, 342*(5-6), 124-135. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2019.05.002

2- Abdel-Fattah, G.M., El-Haddad, S.A., Hafez, E.E., & Rashad, Y.M. (2011). Induction of defense responses in common bean plants by arbuscular mycorrhizal fungi. *Microbiological Research, 166*(4), 268-281. https://doi.org/10.1016/j.micres.2010.04.004

3- Aboelmagd, H.E. (2021). Efficacy of some bio-agents, chemical inducers and fungicides in controlling tomato root rot disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Plant Biotechnology, 59*(2), 197-210. https://doi.org/10.21608/assjm.2021.194261

4- Adesemoye, A., Torbert, H., & Kloepper, J. (2009). Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*, *58*(4), 921-929. https://doi.org/10.1007/s00248-009-9531-y

5- Akhtar, M.S., & Siddiqui, Z.A. (2008). Biocontrol of a root-rot disease complex of chickpea by *Glomus intraradices*, *Rhizobium* sp. and *Pseudomonas straita*. *Crop Protection*, *27*(3-5), 410-417.

6- Aljawasim, B.D., Khaeim, H.M., & Manshood, M.A. (2020). Assessment of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) as potential biocontrol agents against damping-off disease *Rhizoctonia solani* on cucumber. *Journal of Crop Protection, 9*(1), 141-147.

7- Alsudani, A.A., & Raheem Lateef Al-Awsi, G. (2020). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* (Kühn) and *Fusarium solani* (Marti) causing damping-off disease in tomato with *Azotobacter chroococcum* and *Pseudomonas fluorescens*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *23*(11), 1456-1461. https://doi.org/10.3923/pjbs.2020.1456.1461

8- Amer, M.A., & Abou El, S., II. (2008). Mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* as biocontrol agents for suppression of *Rhizoctonia solani* damping-off disease of tomato. *Communications in agricultural and applied biological sciences, 73*(2), 217-232.

9- Arthurson, V., Hjort, K., Muleta, D., Jäderlund, L., & Granhall, U. (2011). Effects on *Glomus mosseae* root colonization by *Paenibacillus polymyxa* and *Paenibacillus brasilensis* strains as related to soil P-availability in

winter wheat. *Applied and Environmental Soil Science*, *2011*, 298097. https://doi.org/10.1155/2011/298097
10- Atwa, M. (2018). Combination of biocontrol agents for controlling soybean damping-off caused by *Rhizoctonia solani*. *Egyptian Journal of Phytopathology*, *46*(2), 15-38.
11- Bagyaraj, D. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi and biological control of soil-borne plant pathogens. *Kavaka*, *51*(1), 1-6.
12- Barea, J., Andrade, G., Bianciotto, V., Dowling, D., Lohrke, S., Bonfante, P., O'gara, F., & Azcon-Aguilar, C. (1998). Impact on arbuscular mycorrhiza formation of *Pseudomonas* strains used as inoculants for biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(6), 2304-2307.
13- Borzouei, S., Sharifi, R., & Moarrefzadeh, N. (2019). Induction of systemic resistance in tomato against broomrape (*Phelipanche aegyptiaca*). *Journal of Phytopathology*, *167*(10), 567-575. https://doi.org/10.1111/jph.12846
14- Braun, S.D., Hofmann, J., Wensing, A., Weingart, H., Ullrich, M.S., Spiteller, D., & Völksch, B. (2010). In vitro Antibiosis by *Pseudomonas syringae* Pss22d, Acting Against the Bacterial Blight Pathogen of Soybean Plants, Does Not Influence *In planta* Biocontrol. *Journal of Phytopathology*, *158*(4), 288-295. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01612.x
15- Buysens, C., Dupré de Boulois, H., & Declerck, S. (2015). Do fungicides used to control *Rhizoctonia solani* impact the non-target arbuscular mycorrhizal fungus *Rhizophagus irregularis*? *Mycorrhiza*, *25*(4), 277-288. https://doi.org/10.1007/s00572-014-0610-7
16- Castillo, A.G., Puig, C.G., & Cumagun, C.J.R. (2019). Non-synergistic effect of *Trichoderma harzianum* and *Glomus* spp. in reducing infection of Fusarium wilt in banana. *Pathogens*, *8*(2), 43. https://doi.org/10.3390/pathogens8020043
17- Chavez-Ramirez, B., Kerber-Diaz, J.C., Acoltzi-Conde, M.C., Ibarra, J.A., Vasquez-Murrieta, M.S., & Estrada-de Los Santos, P. (2020). Inhibition of *Rhizoctonia solani* RhCh-14 and *Pythium ultimum* PyFr-14 by *Paenibacillus polymyxa* NMA1017 and *Burkholderia* cenocepacia CACua-24: A proposal for biocontrol of phytopathogenic fungi. *Microbiological Research*, *230*, 126347. https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126347
18- Chen, S., Zhao, H., Zou, C., Li, Y., Chen, Y., Wang, Z., Jiang, Y., Liu, A., Zhao, P., Wang, M., & Ahammed, G.J. (2017). Combined inoculation with multiple arbuscular mycorrhizal fungi improves growth, nutrient uptake and photosynthesis in cucumber seedlings. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 2516. https:/doi.org/10.3389/fmicb.2017.02516
19- Chiarini, L., Bevivino, A., Tabacchioni, S., & Dalmastri, C. (1998). Inoculation of *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter* sp. on *Sorghum bicolor*: root colonization and plant growth promotion of dual strain inocula. *Soil Biology and Biochemistry*, *30*(1), 81-87.
20- Choudhary, D.K., & Johri, B.N. (2009). Interactions of *Bacillus* spp. and plants--with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, *164*(5), 493-513. https://doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.007
21- Daroodi, Z., Taheri, P., & Tarighi, S. (2021). Direct antagonistic activity and tomato resistance induction of the endophytic fungus Acrophialophora jodhpurensis against *Rhizoctonia solani*. *Biological Control*, *160*, 104696. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104696
22- Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, *57*(1), 41-48.
23- Domsch, K.H., Gams, W., & Anderson, T.H. (2007). *Compendium of Soil Fungi*. London, UK. Academic Press.
24- Donmez, M.F., Uysal, B., Demırcı, E., Ercıslı, S., & Cakmakcı, R. (2015). Biological control of root rot disease caused by *Rhizoctonia solani* Kühn on potato and bean using antagonist bacteria. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, *14*(5), 29-40.
25- Dugassa, G.D., von Alten, H., & Schönbeck, F. (1996). Effects of arbuscular mycorrhiza (AM) on health of *Linum usitatissimum* L. infected by fungal pathogens. *Plant and Soil*, *185*(2), 173-182. https://doi.org/10.1007/BF02257522
26- Fatima, Z., Saleemi, M., Zia, M., Sultan, T., Aslam, M., Rehman, R., & Chaudhary, M.F. (2009). Antifungal activity of plant growth-promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat. *African Journal of Biotechnology*, *8*(2), 219-225.
27- Garbeva, P., Van Elsas, J., & Van Veen, J. (2008). Rhizosphere microbial community and its response to plant species and soil history. *Plant and Soil*, *302*(1-2), 19-32.
28- Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M.N., van Tuinen, D., Redecker, D., & Wipf, D. (2010). Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, *20*(8), 519-530.

https://doi.org/10.1007/s00572-010-0333-3

29- Gouda, S., Kerry, R.G., Das, G., Paramithiotis, S., Shin, H.-S., & Patra, J.K. (2018). Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research, 206*, 131-140. https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.016

30- Grimmer, M.K., van den Bosch, F., Powers, S.J., & Paveley, N.D. (2015). Fungicide resistance risk assessment based on traits associated with the rate of pathogen evolution. *Pest Management Science*, *71*(2), 207-215. https://doi.org/10.1002/ps.3781

31- Hafez, E.E., Abdel-Fattah, G.M., El-Haddad, S.A., & Rashad, Y.M. (2013). Molecular defense response of mycorrhizal bean plants infected with *Rhizoctonia solani*. *Annals of Microbiology*, *63*(3), 1195-1203. https://doi.org/10.1007/s13213-012-0578-5

32- Heflish, A.A., Abdelkhalek, A., Al-Askar, A.A., & Behiry, S.I. (2021). Protective and curative effects of *Trichoderma asperelloides* Ta41 on tomato root rot caused by *Rhizoctonia solani* Rs33. *Agronomy*, *11*(6), 1162. https://doi.org/10.3390/agronomy11061162

33- Honda, N., Hirai, M., Ano, T., & Shoda, M. (1999). Control of tomato damping-off caused by *Rhizoctonia solani* by the heterotrophic nitrifier *Alcaligenes faecalis* and its product, hydroxylamine. *Japanese Journal of Phytopathology*, *65*(2), 153-162.

34- Huang, X., Zhang, N., Yong, X., Yang, X., & Shen, Q. (2012). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N43. *Microbiological Research*, *167*(3), 135-143. https://doi.org/10.1016/j.micres.2011.06.002

35- Huang, Y., He, Y., Ye, B.-C., & Li, C. (2017). Rhizospheric *Bacillus subtilis* exhibits biocontrol effect against *Rhizoctonia solani* in pepper (*Capsicum annuum*). *BioMed Research International*, *2017*, 1-9. https://doi.org/10.1155/2017/9397619

36- Hussain, T., & Khan, A.A. (2020). *Bacillus subtilis HussainT-AMU* and its antifungal activity against potato black scurf caused by *Rhizoctonia solani* on seed tubers. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *23*, 101443. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101443

37- Imperiali, N., Chiriboga, X., Schlaeppi, K., Fesselet, M., Villacrés, D., Jaffuel, G., Bender, S.F., Dennert, F., Blanco-Pérez, R., & Van Der Heijden, M.G. (2017). Combined field inoculations of *Pseudomonas* bacteria, arbuscular mycorrhizal fungi, and entomopathogenic nematodes and their effects on wheat performance. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 1809. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01809

38- Jacott, C., Murray, J., & Ridout, C. (2017). Trade-offs in arbuscular mycorrhizal symbiosis: Disease resistance, growth responses and perspectives for crop breeding. *Agronomy*, *7*(4), 75. https://doi.org/10.3390/agronomy7040075

39- Jamali, F., Sharifi Tehrani, A., Okhovvat, M., & Zakeri, Z. (2005). Effect of antagonistic bacteria on the control of Fusarium wilt of chickpea caused by *Fusarium oxysporum* under greenhouse conditions. *Iranian Journal of Agriculture Science*, *36*(3), 711-717. (In Persian with English abstract)

40- Jelodarnezhadian, N., & Shahbazi, H. (2017). The potential of *Pseudomonas fluorescens* strains in biological control of *Rhizoctonia solani* and colonization of common bean rhizosphere. *Journal of Novel Researches on Plant Protection*, *8*(1), 85-106. (In Persian with English abstract)

41- Jentschel, K., Thiel, D., Rehn, F., & Ludwig-Müller, J. (2007). Arbuscular mycorrhiza enhances auxin levels and alters auxin biosynthesis in Tropaeolum majus during early stages of colonization. *Physiologia Plantarum*, *129*(2), 320-333. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00812.x

42- Kai, M., Effmert, U., Berg, G., & Piechulla, B. (2007). Volatiles of bacterial antagonists inhibit mycelial growth of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*. *Archives of Microbiology*, *187*(5), 351-360. https://doi.org/10.1007/s00203-006-0199-0

43- Kankam, F., Larbi-Koranteng, S., & Adomako, J. (2021). *Rhizoctonia* Disease of Potato: Epidemiology, Toxin Types and Management. *Egyptian Journal of Phytopathology*, *49*(1), 197-209. https://doi.org/10.21608/ejp.2021.72057.1028

44- Kareem, T., & Hassan, M. (2014). Evaluation of *Glomus mosseae* as biocontrol agents against *Rhizoctonia solani* on tomato. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, *4*(2), 15-19.

45- Keel, C., & Défago, G. (1997). Interactions between beneficial soil bacteria and root pathogens: mechanisms and ecological impact. p. 27-47. In: Gange A.C., Brown V.K. (eds) *Multitrophic Interactions in Terrestrial Systems: 36th Symposium of the British Ecological Society*. Cambridge University Press.

46- Knudsen, I., Hockenhull, J., Jensen, D.F., Gerhardson, B., Hökeberg, M., Tahvonen, R., Teperi, E., Sundheim, L., & Henriksen, B. (1997). Selection of biological control agents for controlling soil and seed-borne diseases

in the field. *European Journal of Plant Pathology*, *103*(9), 775-784.

47- Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W.J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: Relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 845. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845

48- Larkin, R., Roberts, D., & Gracia-Garza, J. (1998). Biological control of fungal diseases. p. 141–191. In: *Fungicidal Activity-Chemical and Biological Approaches to Plant Protection*. Wiley. New York, NY.

49- Larkin, R.P. (2008). Relative effects of biological amendments and crop rotations on soil microbial communities and soilborne diseases of potato. *Soil Biology and Biochemistry*, *40*(6), 1341-1351.

50- Larkin, R.P., & Fravel, D.R. (1998). Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Disease*, *82*(9), 1022-1028. https://doi.org/10.1094/PDIS.1998.82.9.1022

51- Lemanceau, P., & Alabouvette, C. (1993). Suppression of Fusarium wilts by fluorescent pseudomonads: Mechanisms and applications. *Biocontrol Science and Technology*, *3*(3), 219-234.

52- Linderman, R.G. (1997). Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal (VAM) Fungi. p. 117-128. In: Carroll G.C., Tudzynski P. (eds) *Plant Relationships, Part B*. Springer Berlin Heidelberg. Berlin, Heidelberg.

53- Linderman, R.G. (2000). Effects of Mycorrhizas on Plant Tolerance to Diseases. p. 345-365. In: Kapulnik Y., Douds D.D. (eds) *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Springer Netherlands. Dordrecht.

54- Liu, K., McInroy, J.A., Hu, C.-H., & Kloepper, J.W. (2018). Mixtures of plant-growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple plant diseases and plant-growth promotion in the presence of pathogens. *Plant Disease*, *102*(1), 67-72. https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0478-RE

55- Madhavi, G.B., Devi, G.U., Kumar, K.V.K., Babu, T.R., & Naidu, T. (2018). Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma harzianum* isolates in inducing systemic resistance (ISR) in maize against *Rhizoctonia solani f. sp. Sasakii*. *International Journal of Chemical Studies*, *6*(2), 628-632.

56- Maheshwari, D.K., Dubey, R.C., Aeron, A., Kumar, B., Kumar, S., Tewari, S., & Arora, N.K. (2012). Integrated approach for disease management and growth enhancement of *Sesamum indicum* L. utilizing Azotobacterchroococcum TRA2 and chemical fertilizer. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *28*(10), 3015-3024. https://doi.org/10.1007/s11274-012-1112-4

57- Mark, G.L., & Cassells, A.C. (1996). Genotype-dependence in the interaction betweenGlomus fistulosum, *Phytophthora* fragariae and the wild strawberry (*Fragaria vesca*). *Plant and Soil*, *185*(2), 233-239. https://doi.org/10.1007/BF02257528

58- Martínez-Medina, A., Pascual, J.A., Lloret, E., & Roldán, A. (2009). Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* and their effects on Fusarium wilt in melon plants grown in seedling nurseries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *89*(11), 1843-1850. https://doi.org/10.1002/jsfa.3660

59- Matloob, A., & Juber, K. (2013). Biological control of bean root rot disease caused by *Rhizoctonia solani* under green house and field conditions. *Agriculture and Biology Journal of North America*, *4*(5), 512-519.

60- Matrood, A.A., & Al-Taie, A.H. (2017). Inhibition Activity of mycorrhizal Fungi *Glomus mosseae* and *G. intradicas* with *Trichderma harizanum* Against *Rhizoctonia solani* in Okra Plant *Abelmoschus esculentus* (L.). *Basrah Journal of Agricultural Sciences*, *30*(2), 72-82.

61- Mekonnen, H., & Fenta, L. (2020). Plant growth promoting Rhizobacteria for plant growth promotion and biocontrol agent against tomato and pepper disease: a review. *World News of Natural Sciences*, *28*, 13-23.

62- Meyer, J.R., & Linderman, R.G. (1986). Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and a plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biology and Biochemistry*, *18*(2), 185-190. https://doi.org/10.1016/0038-0717(86)90025-8

63- Miozzi, L., Vaira, A.M., Catoni, M., Fiorilli, V., Accotto, G.P., & Lanfranco, L. (2019). Arbuscular mycorrhizal symbiosis: Plant friend or foe in the fight against viruses? *Frontiers in Microbiology*, *10*, 1238. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01238

64- Moarrefzadeh, N., Khateri, H., & Abbasi, S. (2023). Alleviation of Rhizoctonia root rot damages in common bean by some arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, *12*, 13-25. (In en) https://doi.org/10.22034/arpp.2023.16034

65- Moarrefzadeh, N., Khateri, H., & Sharifi, R. (2022). The effect of some probiotic bacteria and different methods of their application in biological control of chickpea ascochyta blight disease. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, *11*(1), 97-108. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22034/arpp.2021.13600

66- Moarrefzadeh, N., Sharifi, R., Khateri, H., & Abbasi, S. (2021a). Biological control of *Fusarium oxysporum f. sp. ciceris*, the causal agent of the fusarial yellowing and wilting of chickpea by mixtures of some microbial

agents. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, *9*(1), 61-73. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jbioc.2021.313616.295

67- Moarrefzadeh, N., Sharifi, R., Khateri, H., & Abbasi, S. (2021b). The effect of some plant probiotics in the biocontrol of the causal agents of chickpea Fusarium yellowing and wilting. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, *9*(2), 143-159. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/jbioc.2021.324966.305

68- Moarrefzadeh, N., Sharifi, R., Khateri, H., & Abbasi, S. (2021c). Effect of some probiotics consortia on inhibition of Fusarium yellowing and wilting disease (*Fusarium redolens* Wollenweber) and growth promoting in chickpeas. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, *31*(4), 255-270. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22034/saps.2021.44158.2618

69- Mohamed, I., Eid, K.E., Abbas, M.H.H., Salem, A.A., Ahmed, N., Ali, M., Shah, G.M., & Fang, C. (2019). Use of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) and mycorrhizae to improve the growth and nutrient utilization of common bean in a soil infected with white rot fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *171*, 539-548. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.12.100

70- Mohammadi, S., Shahabi, E., & Kasraian, A. (2020). Effect of endomycorrhiza fungi *Glomus* spp. on induction of resistance in potato plants against *Rhizoctonia solani*. *Indian Phytopathology*, *73*(2), 213-217. https://doi.org/10.1007/s42360-020-00207-0

71- Mohammed, A.S., El Hassan, S.M., Elballa, M., & Elsheikh, E.A. (2020). The role of *Trichoderma*, VA mycorrhiza and dry yeast in the control of *Rhizoctonia* disease of potato (*Solanum tuberosum* L.). *University of Khartoum Journal of Agricultural Sciences*, *16*(2), 285-301.

72- Nasir Hussein, A., Abbasi, S., Sharifi, R., & Jamali, S. (2018). The effect of biocontrol agents consortia against *Rhizoctonia* root rot of common bean *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Crop Protection*, *7*(1), 73-85.

73- Nawrocka, J., Małolepsza, U., Szymczak, K., & Szczech, M. (2018). Involvement of metabolic components, volatile compounds, PR proteins, and mechanical strengthening in multilayer protection of cucumber plants against *Rhizoctonia solani* activated by *Trichoderma atroviride* TRS25. *Protoplasma*, *255*(1), 359-373. https://doi.org/10.1007/s00709-017-1157-1

74- Neilands, J.B. (1993). Siderophores. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *302*(1), 1-3. https://doi.org/10.1006/abbi.1993.1172

75- Ouhaibi-Ben Abdeljalil, N., Renault, D., Gerbore, J., Vallance, J., Rey, P., & Daami-Remadi, M. (2016). Comparative efficacy of three tomato-associated rhizobacteria used singly or in combination in suppressing *Rhizoctonia* Root Rot and enhancing tomato growth. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, *8*(2), 110-119.

76- Ouhaibi-Ben Abdeljalil, N., Vallance, J., Gerbore, J., Yacoub, A., Daami-Remadi, M., & Rey, P. (2021). Combining potential oomycete and bacterial biocontrol agents as a tool to fight tomato *Rhizoctonia* root rot. *Biological Control*, *155*, 104521. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104521

77- Pascual, J.A. (2016). *The use of arbuscular mycorrhizal fungi in combination with Trichoderma spp. in sustainable agriculture*. p. 137-146. In: Arora N.K. (ed), *B*ioformulations: for Sustainable Agriculture.

78- Pérez-de-Luque, A., Tille, S., Johnson, I., Pascual-Pardo, D., Ton, J., & Cameron, D.D. (2017). The interactive effects of arbuscular mycorrhiza and plant growth-promoting rhizobacteria synergistically enhance host plant defences against pathogens. *Scientific Reports*, *7*(1), 16409. https://doi.org/10.1038/s41598-017-16697-4

79- Phillips, J.M., & Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, *55*(1), 158-161. https://doi.org/10.1016/S0007-1536(70)80110-3

80- Priyadharsini, P., Rojamala, K., Ravi, R.K., Muthuraja, R., Nagaraj, K., & Muthukumar, T. (2016). *Mycorrhizosphere: the extended rhizosphere and its significance*. p. 97-124. In: Choudhary D.K., Varma A., Tuteja N. (eds) Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture. Springer Singapore. Singapore.

81- Rouphael, Y., Franken, P., Schneider, C., Schwarz, D., Giovannetti, M., Agnolucci, M., Pascale, S.D., Bonini, P., & Colla, G. (2015). Arbuscular mycorrhizal fungi act as biostimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, *196*, 91-108. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.002

82- Saberi-Rise, R., & Moradi-Pour, M. (2020). The effect of *Bacillus subtilis* Vru1 encapsulated in alginate - bentonite coating enriched with titanium nanoparticles against *Rhizoctonia solani* on bean. *International Journal of Biological Macromolecules*, *152*, 1089-1097. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.197

83- Seifi, S. (2019). *Screening of nitrate removal bacteria and effect of these bacteria on biological control of*

Fusarium wilt disease in tomato. (PhD), University of Tehran, Karaj, Iran.

84- Seifi, S., Behboudi, K., Sharifi, R., & Shapleigh, J.P. (2020). Introduction, mechanisms of action and genomic description in plant probiotic bacterium *Bacillus velezensis*. *Iranian Journal of Plant Protection Science, 50*(2), 159-175. (In Persian with English abstract)

85- Sharifi, R., & Ryu, C.-M. (2020). *Contribution of Bacterial Volatiles to Chemical Ecology*. p. 167-186. In: Ryu C.-M., Weisskopf L., Piechulla B. (eds) Bacterial Volatile Compounds as Mediators of Airborne Interactions. Springer Singapore. Singapore.

86- Shasmita, Swain, H., Naik, S.K., & Mukherjee, A.K. (2019). Comparative analysis of different biotic and abiotic agents for growth promotion in rice (*Oryza sativa* L.) and their effect on induction of resistance against *Rhizoctonia solani*: A soil borne pathogen. *Biological Control*, *133*, 123-133. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.02.013

87- Shi, Z., Wang, F., & Liu, Y. (2012). Response of soil respiration under different mycorrhizal strategies to precipitation and temperature. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 12*, 411-420.

88- Silva, G.T.M.d.A., Oliveira, F.I.C.d., Carvalho, A.V.F., André, T.P.P., Silva, C.d.F.B.d., & Aragão, F.A.S.d. (2020). Method for evaluating *Rhizoctonia* resistance in melon germplasm. *Revista Ciência Agronômica, 51*(4), e20197090. https://doi.org/10.5935/1806-6690.20200076

89- Smith, S.E., Smith, F.A., & Jakobsen, I. (2003). Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiology*, *133*(1), 16-20. https://doi.org/10.1104/pp.103.024380

90- Söderberg, K.H., Olsson, P.A., & Bååth, E. (2002). Structure and activity of the bacterial community in the rhizosphere of different plant species and the effect of arbuscular mycorrhizal colonisation. *FEMS Microbiology Ecology*, *40*(3), 223-231. https://doi.org/10.1016/S0168-6496(02)00233-7

91- St-Arnaud, M., Hamel, C., & Fortin, J.A. (1994). Inhibition of *Pythium ultimum* in roots and growth substrate of mycorrhizal *Tagetes patula* colonized with *Glomus intraradices*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, *16*(3), 187-194. https://doi.org/10.1080/07060669409500751

92- Stockwell, V.O., Johnson, K.B., Sugar, D., & Loper, J.E. (2011). Mechanistically compatible mixtures of bacterial antagonists improve biological control of fire blight of pear. *Phytopathology*, *101*(1), 113-123. https://doi.org/10.1094/phyto-03-10-0098

93- Sumbul, A., Ansari, R.A., Rizvi, R., & Mahmood, I. (2020). *Azotobacter*: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi Journal of Biological Sciences, 27*(12), 3634-3640. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.004

94- Swadling, I.R., & Jeffries, P. (1996). Isolation of microbial antagonists for biocontrol of grey mould disease of strawberries. *Biocontrol Science and Technology*, *6*(1), 125-136. https://doi.org/10.1080/09583159650039584

95- Szczech, M. (2008). *Mixtures of microorganisms in biocontrol*. p. 69-110. In: Kim M.B. (ed), Progress in Environmental Microbiology. Nova Science Publishers. New York, USA.

96- Thakur, M., Sahu, N.R., Tiwari, P.K., & Kotasthane, A. (2018). Combination of Azoxystrobin + Difenocanazole provides effective management of sheath blight of rice caused by *Rhizoctonia solani*. *International Journal of Chemical Studies, 6*(4), 1682–1685.

97- Tu, C.-C., Hsieh, T.-F., & Chang, Y.-C. (1996). Vegetable Diseases Incited by *Rhizoctonia* spp. p. 369-377. In: Sneh B., Jabaji-Hare S., Neate S., Dijst G. (eds) *Rhizoctonia Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control*. Springer Netherlands. Dordrecht.

98- Verma, S., Kumar, V., Narula, N., & Merbach, W. (2001). Studies on in vitro production of antimicrobial substances by *Azotobacter chroococcum* isolates/mutants. *Journal of Plant Diseases and Protection, 108*(2), 152-165.

99- Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Ghisalberti, E.L., Lorito, M., & Sivasithamparam, K. (2006). Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*, *43*(2), 143-148. https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01939.x

100- Wahyuno, D., Manohara, D., & Octivia Trisilawati, O. (2016). Pretreatment effect of black pepper seedlings with *Pseudomonas*, *Trichoderma* and mycorrhiza on foot rot disease incidence. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, 27*(1), 55-66.

101- Wu, M., Yan, Y., Wang, Y., Mao, Q., Fu, Y., Peng, X., Yang, Z., Ren, J., Liu, A., Chen, S., & Ahammed, G.J. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi for vegetable (VT) enhance resistance to *Rhizoctonia solani* in watermelon by alleviating oxidative stress. *Biological Control*, *152*, 104433. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104433

102- Xu, X.M., Jeffries, P., Pautasso, M., & Jeger, M.J. (2011). Combined use of biocontrol agents to manage plant

diseases in theory and practice. *Phytopathology*, *101*, 1024-1031. https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-10-0216

103- Yao, M., Tweddell, R., & Désilets, H. (2002). Effect of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of micropropagated potato plantlets and on the extent of disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Mycorrhiza*, *12*(5), 235-242. https://doi.org/10.1007/s00572-002-0176-7

104- Yao, X., Zhang, Z., Huang, J., Wei, S., Sun, X., Chen, Y., Liu, H., & Li, S. (2021). Candicidin Isomer Production Is Essential for Biocontrol of Cucumber *Rhizoctonia* Rot by *Streptomyces* albidoflavus W68. *Applied and Environmental Microbiology*, *87*(9), e03078-03020. https://doi.org/10.1128/AEM.03078-20

105- Yildirim, E., & Erper, I. (2017). Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. isolated from vegetable crops grown in greenhouses in Samsun province, Turkey. *Bioscience Journal*, *33*(2), 257-267. https://doi.org/10.14393/BJ-v33n2-34580

106- Yu, Y.-Y., Jiang, C.-H., Wang, C., Chen, L.-J., Li, H.-Y., Xu, Q., & Guo, J.-H. (2017). An improved strategy for stable biocontrol agents selecting to control rice sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. *Microbiological Research*, *203*, 1-9. https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.05.006

107- Zhang, F., Zou, Y.-N., Wu, Q.-S., & Kuča, K. (2020). Arbuscular mycorrhizas modulate root polyamine metabolism to enhance drought tolerance of trifoliate orange. *Environmental and Experimental Botany*, *171*, 103926. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103926

108- Zhang, Y., Wang, C., Zhang, Y., Liu, S., Su, P., & Liao, X. (2016). Screening and identification of the novel bacterial strain *Alcaligenes faecalis* B137W and its inhibitory effects against the plant pathogenic fungus, *Rhizoctonia solani*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *26*(4).

109- Zhou, Y., Ge, S., Jin, L., Yao, K., Wang, Y., Wu, X., Zhou, J., Xia, X., Shi, K., Foyer, C.H., & Yu, J. (2019). A novel CO_2-responsive systemic signaling pathway controlling plant mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, *224*(1), 106-116. https://doi.org/10.1111/nph.15917